

UNIVERSITE DE MONTPELLIER

FACULTE DES SCIENCES

T H E S E

présentée à la Faculté des Sciences de Montpellier
pour obtenir le grade de Docteur ès Sciences
(SCIENCES NATURELLES)

ETUDE AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE
DE L'OVOGENESE ET DE L'ATRESIE OVOCYTAIRE CHEZ
TRITURUS HELVETICUS RAZOUMOWSKY 1789
(AMPHIBIEN, URODELE , SALAMANDRIDAE)

par

Claude HUMEAU

Soutenue le 29 Juin 1970 devant la Commission d'Examen.

JURY :	M ^{elle}	O. TUZET	Président
	MM.	J. ASSENMACHER	} Assesseurs
		P. SENTEN	
		R. SENELAR	Invité

UNIVERSITE DE MONTPELLIER

FACULTE DES SCIENCES

T H E S E

présentée à la Faculté des Sciences de Montpellier
pour obtenir le grade de Docteur ès Sciences
(SCIENCES NATURELLES)

ETUDE AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE
DE L'OVOGENESE ET DE L'ATRESIE OVOCYTAIRE CHEZ
TRITURUS HELVETICUS RAZOUMOWSKY 1789
(AMPHIBIEN, URODELE , SALAMANDRIDAE)

par

Claude HUMEAU

Soutenue le 29 Juin 1970 devant la Commission d'Examen.

JURY :	M ^{elle}	O. TUZET	Président
	MM.	J. ASSENMACHER	} Assesseurs
		P. SENTEIN	
		R. SENELAR	
			Invité



FACULTE DES SCIENCES - LISTE DES PROFESSEURS

Doyen : P. DUMONTET

Assesseurs : Ch. SAUVAGE - M. MAURIN

Doyen honoraire : P. MATHIAS

Professeurs honoraires :

R. JACQUES	J. SOULAS
M. CASTERAS	G. DENISOT
E. CARRIERE	J. GRANIER
E. TURRIERE	Ch. BOUHET

Secrétaire Général : E. SIAU

Professeurs titulaires :

M.	M. MOUSSERON	Chimie Organique
M.	J.P. ROIG	Physique
M.	P. CHATELAIN	Minéralogie et Cristallographie
Mlle.	O. TUZET	Zoologie
M.	G. COUCHET	Mécanique Supérieure
M.	J. SALVINIEN	Chimie-Physique
Mlle.	A.M. VERGNOUX	Physique
M.	J. AVIAS	Géologie
M.	P. VIELES	Chimie
M.	J. RABINOVITCH	Physique (C.S.U.P.)
M.	E. KAHANE	Chimie Biologique
M.	J.J. MOREAU	Mécanique rationnelle
M.	B. CHARLES	Mathématiques Pures
M.	J. MOTTE	Biologie Végétale
M.	R. JOUTY	Physique

M.	P. DUMONTET	Physique
M.	R. LEGENDRE	Zoologie
M.	I. ASSENMACHER	Physiologie Ani- male
M.	A. CASADEVALL	Chimie Organique
M.	B. PISTOULET	Physique
M.	Ch. ROUMIEU	Analyse Supérieure
M.	J. ROBIN	Physique
M.	A. POTIER	Laboratoire des Acides Minéraux
M.	R. LAFONT	Physique
M.	R. JACQUIER	Chimie
M.	J. FALGUEIRETTES	Minéralogie
M.	J. REGNIER	Chimie
Mme.	J. CHARLES	Mathématiques
M.	P. CAILLON	Physique
M.	J. ROUZAUD	Chimie
M.	Ch. SAUVAGE	Botanique
M.	H. CHRISTOL	Chimie (E.N.S.I.)
Mme.	G. VERNET	Biologie Animale
M.	L. CECCHI	Physique
M.	H. ANDRILLAT	Astronomie
M.	M. SAVELLI	Physique
M.	M. MATTAUER	Géologie
M.	L. EUZET	Zoologie
M.	C. DELOUPY	Physique
M.	L. GRAMBAST	Botanique
M.	A. BONNET	Botanique
M.	G. LAMATY	Chimie
M.	R. MARTY	Psychophysiologie

Professeurs sans chaire :

Mme. M.L. DE POUCQUES	Botanique (C.S.U.P.)
M. P. MURADOUR	Géophysique Appli- quée
M. G. TOURNE	Chimie
M. J. REMY	Géologie
M. P. DEMANGEON	Géologie
Mme. S. ROBIN	Physique
Mme. Ch. DUBOUL-RAZAVET	Géologie (C.S.U.P.)
M. E. GROUBERT	Physique
Mme. H. GUASTALLA	Biologie Physico- Chimique
M. F. PROUST	Géologie
Mlle. A. BAILLETTE	Mathématiques (C.S.U.P.)
M. A. BASSOMPIERRE	Physique
M. M. MAURIN	Chimie
M. N. ROBY	Mathématiques
Mme. N. PARIS	Physiologie Végétale
M. J. PARIS	Zoologie
M. R. GAUFRES	Chimie
M. J. SOULIER	Chimie (C.S.U.P.)
M. G. BOUGNOT	Physique
M. R. LENEL	Biologie Animale

Professeurs associés :

M. E. AKUTOWICZ	Mathématiques
M. A. MICALI	Mathématiques
M. C. VAGO	Biologie Animale
M. K. KOHLER	Biochimie

Maîtres de Conférences :

M.	P. MOLINO	Mathématiques
M.	Y. GUITTON	Physiologie Végé- tale (C.S.U.P.)
M.	G. BOMBRE	Physique (C.S.U.P.)
M.	C. PUISSEGUR	Biologie Animale (C.S.U.P.)
M.	P. VIALLET	Chimie (C.S.U.P.)
M.	J.M. MORETTI	Chimie
M.	L. THALER	Géologie
M.	J. LEGRAND	Physiologie Ani- male
M.	M. ROUZEYRE	Physique
M.	P. SABATIER	Mathématiques
M.	Ch. CASTAING	Mathématiques
M.	J.D. BAYLE	Physiologie Ani- male
Mme.	M. HAKIM	Mathématiques
M.	R. HAKIM	Mathématiques
M.	M. BAUSSET	Mathématiques (C.S.U.P.)
M.	G. LOUPIAS	Mathématiques
M.	G. MASCHERPA	Chimie
M.	C. GOUT	Physique
M.	R. JONARD	Botanique
M.	F. LAPSCHER	Physique
M.	C. COMBES	Zoologie (C.S.U.P.)
M.	B. BRUN	Chimie Physique
M.	M. DENIZOT	Biologie Végétale
M.	L. KAISER	Physique (C.S.U.P.)
M.	L. GIRAL	Chimie

Maître de Conférences associé :

M. Y. CORMARY Géologie

Chargés d'enseignement :

M. M. LEFRANC Mathématiques

M. R. MARTY Mathématiques

INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE

Maîtres de Conférences :

M. CANDO Physique

M. FILLARD Physique

M. GARCIA Métallurgie -
Génie Mécanique

M. J.P. TRILLES Biologie

M. G. BORDURE Physique

M. L. LASSABATERE Electricité -
Electronique

M. G. LECOY Génie électrique

Chargé d'enseignement :

M. ESCOUFIER Mathématiques

S O M M A I R E

<u>INTRODUCTION</u>	P.	1
But de ce travail	P.	1
L'ovaire d'Amphibien	P.	3
Matériel et méthodes	P.	6
 <u>L'OVOGENESE</u>	P.	11
<i>L'OVOGENESE EN MICROSCOPIE OPTIQUE</i>	P.	12
<i>LE NOYAU</i>	P.	17
Observations	P.	19
- Les nucléoles	P.	19
- Le nucléoplasme et les chromosomes ..	P.	21
- La membrane nucléaire	P.	22
Discussion	P.	23
Conclusion	P.	26
 <i>LES LAMELLES ANNELEES ET LE RETICULUM ENDOPLAS-</i> <i>MIQUE</i>	P.	27
Observations	P.	29
Discussion	P.	31
- Origine des lamelles annelées	P.	32
- Fonction des lamelles annelées	P.	35
Conclusion	P.	36

LA VITELLOGENESE	P.	38
Observations	P.	40
- Formation du vitellus primaire à partir des mitochondries	P.	40
- Formation du vitellus primaire à partir des dictyosomes	P.	42
- Origine complexe du vitellus pri- maire	P.	43
- Formation du vitellus primaire par pinocytose	P.	44
- Structure des plaquettes vitellines	P.	45
- Formation du vitellus secondaire .	P.	46
Discussion	P.	48
Conclusion	P.	54
LES ENVELOPPES DE L'OVOCYTE	P.	56
Observations	P.	57
- la <i>zona radiata</i>	P.	57
- les couches cellulaires	P.	60
: Cellules folliculeuses	P.	61
: Thèque	P.	62
: Epithélium de surface	P.	63
Discussion	P.	63
Conclusion	P.	68
ORGANITES ENIGMATIQUES	P.	69
Lysosomes	P.	69
Structures tubulaires ou granulaires pé- riodiques	P.	69

<u>L'ATRESIE OVOCYTAIRE</u>	P.	71
INTRODUCTION	P.	72
Conditions d'apparition de l'atrésie ovo-		
cytaire	P.	73
Signification de l'atrésie ovocytaire	P.	74
Déterminisme physiologique de l'atrésie		
ovocytaire	P.	75
Conclusion	P.	78
L'OVOCYTE ATRETIQUE AU MICROSCOPE OPTIQUE	P.	80
Observations	P.	80
- Le follicule et le cortex	P.	80
- Le cytoplasme et le noyau	P.	81
- Cas des ovocytes non vitellins	P.	84
- Régression parasitaire	P.	84
- Les corps jaunes	P.	85
Discussion	P.	86
L'OVOCYTE ATRETIQUE AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE ..	P.	89
Modifications du cytoplasme	P.	89
Modifications de la <i>zona radiata</i> et des		
cellules folliculeuses	P.	92
Modifications du noyau	P.	94
Cas des ovocytes non vitellins	P.	95
Le corps atrétique	P.	96
DISCUSSION	P.	98
Siège des premières manifestations de		
l'atrésie	P.	98
Nature du métabolisme atteint le premier ...	P.	100

Mode d'action de la FSH	P. 104
Cas des ovocytes non vitellins	P. 106
Transformation des cellules folliculeuses en macrophages	P. 106
Le corps atrétique	P. 108
Conclusion	P. 109
 <u>RESUME</u>	 P. 111
L'ovogenèse	P. 111
L'atrésie ovocytaire	P. 115
 <u>BIBLIOGRAPHIE</u>	 P. 119
 <u>ABREVIATIONS UTILISEES</u>	 P. 147

A Monsieur le Professeur SENTEIN

Vous avez inspiré et dirigé ce travail que j'ai pu mener à bien grâce aux moyens matériels importants que vous avez mis à ma disposition. Et surtout depuis déjà plusieurs années vous avez consacré une part importante de votre temps à m'initier à la Cytologie, et à m'instruire des exigences de la Recherche et de l'Enseignement. Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon désir de bénéficier encore longtemps de vos critiques et de vos conseils.

Mademoiselle le Professeur TUZET a accepté malgré ses nombreuses occupations de juger ce travail et de présider ce Jury. Qu'elle veuille bien trouver ici l'expression de ma respectueuse reconnaissance et de mes remerciements pour la bienveillance avec laquelle elle m'a reçu.

Monsieur le Professeur ASSENMACHER a bien voulu consacrer un peu de son temps à lire ce travail et faire partie du Jury. Il m'est particulièrement agréable de l'en remercier et de l'assurer que je n'oublie pas l'enseignement que j'ai reçu lorsque j'ai fait mes premiers pas de chercheur sous sa direction.

Je remercie Monsieur le Professeur SENELAR d'avoir bien voulu faire partie de ce Jury et aussi pour l'accueil qu'il m'a toujours réservé lorsque j'ai eu besoin de conseils pour la réalisation de ce travail.

Que les membres du laboratoire d'Histologie qui m'ont aidé directement ou indirectement trouvent ici l'expression de mes remerciements.

L'objectif que nous nous étions fixé était d'étudier le mécanisme de l'atrésie de l'ovocyte chez les Amphibiens en général, en choisissant quelques espèces d'Anoures (*Rana temporaria*, *Bufo bufo*, *Hyla arborea*, *Pelodytes punctatus*) et d'Urodèles (*Triturus helveticus*, *marmoratus*, *alpestris*). Il s'agissait donc d'abord de déterminer la séquence des modifications subies par l'ovocyte jusqu'au stade de corps atrétique, à l'aide de la microscopie optique et surtout de la microscopie électronique avec quelques compléments d'histochimie. Nous nous sommes très largement écartés de cet objectif ; en effet l'examen des structures anormales de l'ovocyte en dégénérescence suppose la connaissance précise de ses structures normales, donc une étude détaillée de l'ovogenèse en microscopie électronique.

A cause de l'extension prise par cette partie de notre étude, nous avons dû réduire notre champ d'observation à une seule espèce, *Triturus helveticus* Raz., nous contentant pour les autres espèces de brèves comparaisons.

La première partie de ce travail est donc consacrée à l'ovogenèse que nous n'étudions que du point de vue morphologique et ultrastructural, en délaissant tous ses autres aspects, qui seraient l'objet de travaux très différents.

Cette étude présente un intérêt à divers titres :
- elle est une contribution à la connaissance de l'ovogenèse en général et de cette espèce en particulier.

- elle concerne divers organites de l'ovocyte intéressants du point de vue cytologique en général et pas seulement dans le cadre de l'ovogenèse.
- elle est indispensable à la compréhension de l'atrésie ovocytaire.

La deuxième partie est consacrée à l'étude de l'atrésie de l'ovocyte, en microscopie optique et surtout en microscopie électronique. Nous l'envisageons aussi de plusieurs façons :

- elle doit permettre de préparer un schéma général du mécanisme de l'atrésie ovocytaire chez les Amphibiens.
- elle est une contribution à l'étude des processus de dégénérescence cellulaire en général.

Les ovaires des Amphibiens sont de structure simple : sortes de sacs à paroi mince constitués par le cortex et recouverts par l'épithélium germinatif. Celui-ci contient pendant toute la vie de l'adulte des ovogonies qui sont à l'origine de plusieurs générations d'ovocytes (HUMPHREY, 1931 ; JURAND, 1957). Ceux-ci, appendus à l'intérieur du sac ovarien, sont de taille diverse ; leur développement se poursuivant sur trois ans, il en existe donc trois générations distinctes (SMITH, 1955). Ils sont entourés de cellules somatiques formant un follicule beaucoup moins complexe que celui des Vertébrés supérieurs, puisqu'il est constitué d'une seule couche de cellules folliculeuses et d'une seule thèque.

On trouve aussi de façon constante comme chez les autres Vertébrés des corps atrétiques et des corps jaunes. Les corps atrétiques se rencontrent pendant toute l'année en très petit nombre, et au moment de la ponte en grand nombre ; ils proviennent de la dégénérescence d'ovocytes. Les corps jaunes résultent de modifications des cellules du follicule et de la thèque après l'expulsion de l'ovocyte ; ils n'ont été décrits que dans quelques espèces (voir KESSEL et PANJE, 1968). Leur existence, comme d'ailleurs chez les autres Vertébrés non Mammifères et non vivipares, pose de nombreux problèmes.

L'origine des cellules germinales n'a jamais été précisée avec sûreté. On admet que chez les Anoures, elles sont d'origine endodermique (CHENG, 1932 ; JURAND, 1957), alors qu'elles proviendraient du mésoderme chez les Urodèles (HUMPHREY, 1925 ; NIEUWKOOP, 1947). De même, au moins chez

les Urodèles, les cellules folliculeuses semblent d'origine mésodermique (BURNS, 1925 ; WITSCHI, 1951).

Chez tous ces animaux la ponte se produit au printemps ; chez les Anoures tous les oeufs sont pondus (plusieurs centaines) en une seule fois ; chez les Urodèles la ponte dure deux ou trois mois, quelques oeufs seulement étant pondus chaque jour.

Les sécrétions ovariennes sont mal connues chez les Vertébrés inférieurs et spécialement chez les Amphibiens. Il y a longtemps que des expériences d'ovariectomie ont montré l'influence des ovaires sur les caractères sexuels secondaires (sans qu'on puisse d'ailleurs faire la part du rôle de l'hypophyse) (DE BEAUMONT, 1929 ; GITLIN, 1939 ; HOUSSAY, 1949) et sur la cytologie de l'hypophyse (ZUBER-VOGELLI, 1953 ; CORDIER, 1953). Les conséquences de l'ovariectomie peuvent être corrigées par injection d'oestrogènes (GALLI-MAININI, 1951). On n'a toujours pas isolé d'hormones stéroïdes, oestrogènes et progestérone, à partir des ovaires d'Amphibiens, mais leur existence est pratiquement admise (BOTTE et COTTINO, 1964 ; CALLARD et LEATHEM, 1966). On attribue au follicule la propriété de synthétiser de la progestérone (MASUI, 1967), mais la distinction est mal faite entre follicule proprement dit et thèque.

Les relations hypophyso-ovariennes sont tout à fait analogues, tout au moins pour ce qui est connu, à celles que l'on trouve dans la série des Vertébrés. L'adénohypophyse fournit les mêmes hormones gonadotropes, FSH et LH (VON BUDDENBROCK, 1950 ; HERLANT, 1954 ; PICKFORD et ATZ, 1957), qui n'ont cependant pas été isolées. LTH contrôle, semble-t-il, l'hydrotropisme de ces animaux (GRANT et GRANT, 1958). On admet, comme

chez les autres Vertébrés, l'action de FSH sur la croissance des follicules et sur la maturation des ovocytes, et l'action de LH sur l'ovulation (WRIGHT, 1950 ; DETTLAFF et SKOBLINA, 1969).

MATERIEL ET METHODES

Notre étude a porté sur une seule espèce : *Triturus helveticus* Raz. Tous les animaux utilisés ont été capturés dans les mares du Causse du Larzac, spécialement dans la région du Caylar et de la Cavalerie.

Le seul fait de les maintenir en captivité provoquant l'apparition d'atrésie ovocytaire, nous avons puisé abondamment, pour cette partie de notre travail, chez les animaux conservés au laboratoire ; par ailleurs, les ovocytes normaux de ces mêmes animaux n'ont pas paru présenter de différences avec ceux des Tritons sacrifiés aussitôt après leur capture. Nos observations sur l'ovogenèse ou sur l'atrésie ovocytaire portent donc indifféremment sur des Tritons vivant soit dans leurs conditions naturelles, soit dans les conditions d'élevage du laboratoire.

Les ovaires ont été prélevés après anesthésie des animaux par le MS 222, et disséqués ovocyte par ovocyte dans le fixateur lui-même.

MICROSCOPIE OPTIQUE

Nous avons utilisé un certain nombre de fixateurs, qui ont donné des résultats variables, selon surtout leur pouvoir de pénétration dans ces grosses cellules, entourées de surcroît par trois couches cellulaires, et selon leur aptitude à fixer le matériel hétérogène constitué par le vitellus et le cytoplasme des ovocytes.

Nous avons utilisé de préférence les mélanges de :

- Moricard
- Zenker
- Bouin

Les coupes ont été colorées selon diverses méthodes :

- Safranine - Bleu de Méthyle - Orange G.
- Flemming
- Mallory
- Prenant

Nous avons aussi pratiqué quelques colorations histochimiques, selon les méthodes préconisées par LISON (1960) et par PEARSE (1960).

- | | | |
|---|---|-----------------|
| - PAS - Vert de Méthyle |) | |
| - Bleu de Toluidine | (| Polysaccharides |
| - Décoloration par MnO_4K et H_2O_2 |) | |
| - Réaction argentaffine de MASSON | (| Mélanine |
| - Test de HUECK |) | |
| - Test de SCHMORL | (| Lipofuscines |
| - Coloration par l'iode |) | Caroténoïdes |
| - Coloration de Feulgen |) | ADN |

MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

FIXATION

Les difficultés rencontrées en microscopie optique pour fixer les ovocytes sont ici multipliées, et après divers essais nous n'avons retenu que deux techniques de fi-

xation : mélange de permanganate de potassium et d'acide osmique ; double fixation au glutaraldéhyde et à l'acide osmique. La deuxième méthode est de beaucoup préférable et c'est elle que nous avons utilisée presque exclusivement.

- Mélange MnO_4K et OsO_4 (TAHMISIAN, 1964).

- OsO_4 à 1 % et MnO_4K à 1,3 %.
- Tampon phosphate.
- Durée de fixation : deux heures.

Cette méthode assure une bonne fixation des membranes mais les ribonucléoprotéines sont détruites, ou en tout cas invisibles, comme après une fixation au MnO_4K seul (LUFT, 1956).

- Double fixation glutaraldéhyde et OsO_4 (SABATINI et al. 1963).

- Glutaraldéhyde à 5 %, avec tampon MILLONIG, pendant 1 heure 30, à 4°.
- après lavage dans le tampon, postfixation à l' OsO_4 à 1 % avec tampon MILLONIG, pendant 1 heure, à 4°.

INCLUSION

- Déshydratation par passages dans une série de bains d'alcools de 50° à 100° et d'oxyde de propylène.
- Imprégnation par passages dans les mélanges d'oxyde de propylène et de résine, le pourcentage de résine étant de plus en plus élevé à chacun de ces bains (25 %, 50 % et 75 %).
- Imprégnation pendant 24 heures dans la résine pure.
- Polymérisation pendant 48 heures, à 60°.

Nous n'avons utilisé que l'araldite, le mélange araldite - durcisseur - accélérateur - plastifiant étant composé selon les indications de GLAUERT et GLAUERT (1958). C'est ce mélange qui est employé d'un bout à l'autre de l'imprégnation ; en particulier, il contient toujours de l'accélérateur.

COLORATION

- Sur bloc : avec l'acide phosphotungstique à 1 % dans l'alcool.
- Sur grilles : double coloration à l'acétate d'uranyle à 5 % dans l'alcool à 50°, pendant 30 minutes, puis au citrate de plomb pendant 30 minutes (REYNOLDS, 1963).
- Nous n'avons pratiqué qu'une seule réaction spécifique : la digestion par l'amylase. Son action sur coupes d'araldite selon le procédé de MONNERON et BERHNARD (1966) n'est peut-être pas tout à fait concluante malgré une durée d'incubation très allongée (24 h. et 48 h.).

Les coupes ont été effectuées à l'ultramicrotome REICHERT et examinées au microscope PHILIPS EM 200.

L ' O V O G E N E S E

L'OVOGENESE CHEZ LES AMPHIBIENS EN

MICROSCOPIE OPTIQUE

Les premiers travaux concernant l'ovogénèse chez les Amphibiens sont très anciens (CRAMER, 1848 ; WALDEYER, 1870). Mais c'est surtout au début du siècle que la morphologie de l'ovocyte a été examinée avec le plus grand soin. Parmi les travaux les plus marquants, ceux de LAMS (1906), Mc CLENDON (1909, 1915), LEVI (1912), AVEL (1923), ceux de HIBBARD (1927, 1928), il faut faire une place spéciale à ceux de CARNOY et LEBRUN (1897, 1898, 1899) qui ont accumulé une somme très importante d'observations sur l'ovocyte, de diverses espèces d'Urodèles et d'Anoures. La fin de cette période de description a été marquée par un intérêt pour la biochimie des constituants de l'ovocyte (BIALASZEWICZ, 1921 ; FAURE-FREMIET et DU VIVIER, 1921 ; KONOPACKI, 1924 ; NEEDHAM, 1931 ; BRACHET, 1940).

Les études morphologiques ont repris, au cours des années 50, avec l'utilisation du microscope électronique ; et, là encore, après la phase descriptive on retrouve un regain d'intérêt pour l'étude biochimique et surtout cytochimique, tendant à remplacer l'étude de l'aspect statique de l'ovogénèse par celle de son aspect dynamique.

Nous retracerons brièvement la morphologie de l'ovocyte au microscope optique, nous basant sur les descriptions classiques des principaux auteurs que nous avons cités et en l'illustrant par celle de l'ovocyte de *Triturus helveticus*

(Pl. I), en soulignant les quelques différences entre cette espèce et le tableau d'ensemble connu chez les Amphibiens.

L'ensemble de l'ovogenèse se déroule chez les Amphibiens sur trois années. Après la phase de multiplication, les ovogonies se transforment en ovocytes de premier ordre et c'est souvent cette seule période d'accroissement de l'ovocyte que l'on nomme ovogenèse et qui ne correspond en réalité qu'à la prophase de la mitose réductionnelle, la fin de cette division et la mitose équationnelle qui la suit se déroulant après la fécondation seulement, comme chez tous les Vertébrés. Nous ne parlerons ici que de cette période d'accroissement de l'ovocyte primaire qui le rend apte à la ponte et à la fécondation. Cette période de maturation comprend deux aspects : la maturation nucléaire et la maturation cytoplasmique.

EVOLUTION NUCLEAIRE

Elle correspond à la prophase de la méiose ; celle-ci se déroule presque entièrement au cours de la première année pendant laquelle en effet on observe les stades leptotène, zygotène, pachytène et diplotène. C'est à ce stade que le noyau reste bloqué pendant ensuite deux années. Nous nous intéressons donc à un noyau du stade diplotène exclusivement. Il est caractérisé par la présence d'une membrane et surtout par la présence de chromosomes plumeux ("lampbrush chromosomes"), de grande taille, formés d'un axe d'où partent de nombreuses boucles ou anses.

La forme du noyau est toujours arrondie ou ovale, avec un contour plus ou moins irrégulier. Il est situé dans la région centrale de la cellule. Il augmente de taille tout au long de l'ovogenèse mais moins rapidement que la cellule

dans son ensemble, de sorte que le rapport nucléo-plasmique passe de 0,7 en début d'ovogenèse à 0,1 en fin de maturation.

Les nucléoles, nombreux dès le stade zygotène, ne cessent de se multiplier, au moins jusqu'au début du stade diplotène. Ils sont d'abord disposés à la périphérie du noyau, puis migrent dans sa région centrale à la fin de la vitellogenèse ; ces mouvements ne sont pas tous les mêmes dans toutes les espèces. Lors de leur séjour dans la région centrale du noyau ils sont souvent au contact des chromosomes qui se groupent à cet endroit, eux aussi. Au début de la phase de vitellogenèse, apparaissent de très nombreux "micronucléoles" qui sont isolés dans le nucléoplasme ou bien accolés aux chromosomes et aux nucléoles.

EVOLUTION CYTOPLASMIQUE

Elle consiste en une accumulation de réserves qui seront nécessaires au développement de l'oeuf fécondé, accumulation importante puisque la taille de la cellule passe de 10μ à 1100 ou 1200μ environ (quelquefois plus dans certaines espèces). Ces réserves sont lipidiques, glucidiques ou protéiques. Les premières apparaissent dans l'ovocyte de 200μ de façon diffuse dans tout l'ovocyte. Le vitellus protéique apparaît un peu plus tard d'abord à la périphérie de l'ovocyte, puis il se dirige vers le centre ; une deuxième poussée de vitellogenèse tardive se produit ensuite dans la région périnucléaire vers le cortex. Dans de nombreuses espèces le vitellus se forme à partir d'un noyau vitellin de BALBIANI, qui n'existe pas chez *Triturus helveticus* alors qu'on le rencontre cependant chez d'autres Urodèles. Ce noyau vitellin est très courant en dehors des Amphibiens et l'on connaît maintenant sa structure au microscope électronique : amas de mitochondries et dictyosomes ; ANDRE et

ROUILLER (1957) l'ont décrit pour la première fois chez *Tegenaria* et on l'a observé depuis à de nombreuses reprises, même chez les Amphibiens (voir BALINSKY et DEVIS, 1963). Ces plaquettes vitellines sont de plus en plus grosses en allant du pôle animal vers le pôle végétatif (préexistence de l'axe de symétrie avant la fécondation; WITTEK, 1952). De même une pigmentation mélanique est très souvent observée, variable selon les espèces, chez le Triton palmé elle est régulière et peu importante, apparaissant lorsque l'ovocyte a atteint une taille de 500 μ environ.

Cette période d'accroissement par accumulation de réserves deutoplasmiques s'accompagne du développement des couches cellulaires et acellulaires qui entourent l'ovocyte. Ce sont de l'intérieur vers l'extérieur : la *zona radiata* qui apparaît nettement striée au microscope optique, les cellules folliculeuses, la thèque et un épithélium de surface.

Ce tableau très succinct de la morphologie de l'ovocyte nous permet de définir les questions que nous nous proposons d'étudier, toujours du seul point de vue morphologique, au microscope électronique : le noyau, les lamelles annelées, la vitellogenèse et les enveloppes de l'ovocyte. Nous laissons de côté quelques problèmes comme par exemple celui des pigments mélaniques et nous parlerons des organites tels que mitochondries, dictyosomes, etc ... à l'occasion de ces différentes questions. Nous envisagerons d'ailleurs ces quatre chapitres sous des aspects différents.

L'étude du noyau n'est envisagée que comme référence par rapport à l'ovocyte atrétique, dans le but de

pouvoir déterminer avec précision les premières atteintes nucléaires au cours de cette dégénérescence. C'est avec la même optique que nous examinons les enveloppes de l'ovocyte, zone importante à cause des relations ovocyte-cellules nourricières.

L'étude de la vitellogenèse n'est pas faite dans le même sens ; elle est une contribution à la connaissance de ce phénomène et nous avons essayé de faire le tour complet de cette question (du point de vue ultrastructural seul) dans cette espèce.

L'abondance de lamelles annelées dans cet ovocyte nous conduit à une étude, aussi détaillée que possible de ces organites toujours énigmatiques, qui dépasse donc le cadre de l'ovogenèse, son intérêt étant d'ordre beaucoup plus général.

Nous décrirons en appendice quelques organites de signification inconnue ou d'interprétation difficile.

Au cours des vingt dernières années le noyau des ovocytes d'Amphibiens a été l'objet d'un nombre considérable de travaux. C'est en effet à cause de leur taille et de celle de leur noyau, et aussi à cause de leurs particularités nucléaires (chromosomes plumeux, appareil multinucléolaire) que ces cellules constituent un matériel de choix pour l'étude des métabolismes nucléaires, sans compter l'intérêt direct dans les problèmes de maturation et de préparation à l'embryogenèse. Toutes les techniques usuelles ont été utilisées : étude de la composition chimique, morphologie ultrastructurale et au contraste de phase, histochimie et autoradiographie.

Les études biochimiques peu nombreuses (BRACHET, 1934, 1942 ; ROLLER, 1963 ; DAWID, 1965 ; HAGGIS, 1966) ont établi la teneur en ADN et en ARN du noyau, de ses divers constituants et du cytoplasme.

Par contre les travaux consacrés à l'étude morphologique des constituants nucléaires sont très nombreux. Il est ainsi établi que les nucléoles sont formés des deux composants classiques fibrillaire et granulaire, quelles que soient leur forme (variable selon les espèces) ou leur disposition dans le noyau ; certains auteurs ont mentionné ou décrit des "micronucléoles", en émettant sur leur structure et leur origine (à partir des nucléoles ou des chromosomes) des opinions quelquefois divergentes (GUYENOT et DANON, 1953 ; BROWN, 1956 ; GALL, 1956a ; BROWN et RIS, 1959 ; DE HALLER, 1959 ; WISCHNITZER, 1960a ; WARTENBERG, 1962 ; MILLER, 1962, 1965, 1966, 1967 ; MAKAROV, 1964 ; CALLAN, 1966 ; LANE, 1967 ; HUMEAU et SENTENIN, 1968 ; VAN GANSEN et SCHRAM, 1968).

La morphologie des chromosomes correspondant au stade diplotène est bien connue en microscopie optique ; ils constituent les chromosomes plumeux ("lampbrush chromosomes") formés d'un axe d'où partent de nombreuses boucles de taille différente ; il est maintenant admis qu'ils sont formés de deux chromatides juxtaposées qui s'écartent par endroits pour former les boucles ou anses (GALL, 1954, 1958, 1965a ; CALLAN, 1960, 1966 ; SRIVASTAVA et BHATNAGAR, 1962). Les données ultrastructurales sur les chromosomes sont rares ; comme dans les autres cellules leur observation au microscope électronique est décevante, et on ne décrit que des alignements de grains dont les dimensions et les formes correspondent plus ou moins nettement à celles des chromosomes plumeux (TOMLIN et CALLAN, 1951 ; GUYENOT et DANON 1953 ; GALL 1956 b, 1965a ; LAFONTAINE et RIS, 1958).

La membrane nucléaire a été étudiée très tôt ; sa constitution est bien connue et classique ; double membrane avec pores de dimensions variables et de structure diverse dans le détail selon les espèces (CALLAN et al, 1950 ; GALL, 1954, 1965b, 1967a ; WISCHNITZER, 1958, 1959, 1963a ; WARTENBERG, 1962 ; KESSEL, 1969 a). Les pores livrent passage à du matériel nucléaire vers le cytoplasme, matériel décrit différemment selon les auteurs qui ont suivi leur évolution et leur progression dans le cytoplasme (MILLER, 1962 ; LANZAVECCHIA et al. 1963 ; KESSEL, 1969 b).

C'est surtout l'aspect dynamique et non plus morphologique qui est à l'ordre du jour depuis quelques années. Il s'agit là d'un chapitre aux dimensions considérables que nous ne ferons que résumer en citant les auteurs principaux (GALL, 1959, 1967b, 1968 ; FICQ, 1961, 1962 ; GALL et CALLAN, 1961, 1962 ; MILLER, 1962, 1964 ; ISAWA et al. 1963 ; EDSTROM et GALL, 1963 ; BRACHET et QUERTIER, 1963 ; BROWN et GURDON, 1964 ; DAVIDSON et al. 1964 ; Mc. GREGOR, 1965, 1967 ; BRACHET et FICQ, 1965 ; BRACHET, 1967, 1969 ; HANOCQ-QUERTIER et al. 1968 ; VAN GANSEN et

SCHRAM, 1969). On sait désormais que les chromosomes plumeux ont un axe constitué d'ADN et supportant les organisateurs nucléolaires, et que les boucles contiennent elles aussi de l'ADN entouré d'une matrice d'ARN. Cet ARN synthétisé ainsi au contact du chromosome passe dans la partie granulaire. C'est sans doute par l'intermédiaire des nucléoles périphériques ou des grains périchromatiniens du nucléoplasme que l'information indispensable à l'activité des ribosomes passe dans le cytoplasme. Le rôle des micronucléoles n'est pas connu.

Tous ces travaux et d'autres moins récents ou identiques à ceux-ci ont été effectués dans les espèces d'Amphibiens les plus diverses, entre lesquelles il ne semble pas y avoir de différences essentielles. Nous nous proposons d'étudier les structures nucléaires de l'ovocyte de *Triturus helveticus* dans le but essentiel de suivre leur évolution ensuite au cours de l'atrésie ovocytaire.

OBSERVATIONS

LES NUCLEOLES

Ils sont de diverses sortes selon le stade de l'ovogenèse. Dans l'ovocyte jeune, donc d'un diamètre inférieur à 250μ , avant la vitellogenèse, ils ont tous la même structure et ils sont tous à la périphérie du noyau. Leur forme est généralement arrondie ou ovale et leur taille varie entre 1 et 2μ (Pl. II, fig 1). Certains sont très allongés et sont creusés d'une grosse vacuole dont le contenu est identique au nucléoplasme. Ils sont constitués uniquement de fibrilles très étroitement peletonnées, que l'on distingue nettement à la périphérie du nucléole dans une auréole claire qui l'entoure. Souvent entre la membrane nucléaire et le nucléole, qui en est

très peu éloigné (moins de $0,5\mu$) mais qui ne se trouve jamais à son contact, on observe un matériel spumeux formant quelquefois un amas de taille importante (Pl. II, fig 1).

Dans les ovocytes en vitellogenèse l'appareil nucléolaire est beaucoup plus complexe. On distingue selon la taille deux sortes de nucléoles : des nucléoles de structure classique et des "micronucléoles". Les premiers peuvent être, comme nous l'avons vu, soit à la périphérie du noyau soit dans sa région centrale, ils peuvent être ainsi partagés en deux lots occupant chacun l'une de ces positions. Leur taille est variable mais sans relation avec leur emplacement, de 5 à 8μ environ de diamètre, leur forme étant le plus souvent arrondie avec un pourtour irrégulier et échan-cré (Pl. II fig 2). Ils n'ont plus une structure homogène, mais sont constitués des deux parties fibrillaire et granulaire (Pl. II, fig 2, 3 et 4). Ces deux zones ne sont pas intriquées l'une dans l'autre mais juxtaposées et sensiblement de même taille. La partie fibrillaire est toujours orientée du côté de la membrane nucléaire quand le nucléole est périphérique ; la partie granulaire, composée de grains de 150μ présente souvent de nombreuses lacunes.

Entre le nucléole et la membrane nucléaire on ne trouve plus le matériel spumeux décrit dans les plus jeunes ovocytes mais des amas de grains denses de $400\text{ \AA}$, les uns au contact du nucléole, d'autres au contact de la membrane nucléaire (Pl. III, fig 1). De plus les nucléoles montrent des protubérances constituées de matériel fibrillaire, dont les dimensions varient entre $0,1$ et $0,3\mu$, entourées de ces grains de $400\text{ \AA}$ (Pl. III, fig 2) ; ces protubérances semblent même se détacher du nucléole (Pl. III, fig 3).

Les micronucléoles sont beaucoup plus nombreux et répartis dans tout le nucléoplasme. Ils sont soit libres,

soit accolés aux gros nucléoles quand ceux-ci sont dans la région centrale du noyau. Ces micronucléoles apparaissent au début de la vitellogenèse et ils sont de plus en plus nombreux jusqu'à la fin de l'ovogenèse. Il semble y en avoir de plusieurs sortes ; la plupart sont constituées des deux parties, fibrillaire et granulaire, non plus juxtaposées comme dans le cas précédent mais étroitement mélangées, avec en plus des grains de 400 Å (Pl. III, fig 4). D'autres, beaucoup moins nombreux, ont une trame fibrillaire, des grains de 400 Å très abondants et peu ou pas de grains de 150 Å, qui sont d'ailleurs très difficiles à déceler tant les plus gros sont denses (Pl. IV fig 1). Enfin en nombre encore moins important, il en existe qui sont uniquement constituées de fibrilles, sans grains de 150 Å, avec une couronne de grains de 400 Å sur tout leur pourtour (Pl. IV. fig 2).

LE NUCLEOPLASME ET LES CHROMOSÔMES

Le nucléoplasme est constitué à tous les stades de l'ovogenèse d'un matériel homogène plus ou moins amorphe ou fibrillaire dans lequel sont dispersés des grains identiques aux précédents (400 Å). Mise à part leur disposition autour des nucléoles que nous avons décrite, leur répartition est quelconque et homogène. Dans quelques cas cependant ils forment des chaînettes rappelant celles qui constituent dans le cytoplasme les polysomes (d'une taille différente) (Pl. IV, fig 3). Quelquefois ces grains sont agglomérés et forment des amas allongés et rectilignes de 3 à 4 μ de long sur 0,1 à 0,2 μ de large (Pl. IV. fig 4) ; ou bien ces amas sont de taille plus importante et forment des figures complexes : sorte de boucles renfermant des fibrilles (Pl. IV, fig 5).

On rencontre en outre de rares formations arrondies, de 2 μ de diamètre environ, constituées de deux parties con-

centriques (Pl. IV, fig 1). La zone centrale est formée de grains de 150 Å sur un fond de substance amorphe ou fibrillaire très resserrée. La partie périphérique est faite de petites sphères de 0,1 à 0,5 μ de diamètre isolées les unes des autres, dont la structure est différente de la partie centrale, elles semblent surtout fibrillaires, les grains de 150 Å étant au contraire peu nombreux.

LA MEMBRANE NUCLEAIRE

Elle est constituée de deux feuillets classiques séparés par une distance de 200 Å ; son aspect varie peu au cours de l'ovogenèse si ce n'est par son plus ou moins grand nombre de pores. Ceux-ci, en effet, sont relativement peu nombreux avant la vitellogenèse, 1 pore sur une longueur de 1 μ en coupe transversale, alors qu'on en trouve 5 par μ dans les ovocytes vitellins. Ces pores ont un diamètre de 800 Å, ils possèdent un diaphragme sans grain central et un anneau de substance dense (Pl. II, fig 1 et Pl. III, fig 1).

Alors que du côté nucléaire on ne trouve que les grains périchromatiniens, du côté cytoplasmique, au contact de la membrane nucléaire, on observe de très nombreuses extrusions nucléaires de texture fibrillaire (Pl. V, fig 2 et 3) d'une taille de 0,3 μ en moyenne. Il est très difficile d'observer le passage de matériel au niveau des pores. Ces émissions migrent dans le cytoplasme jusqu'à plusieurs μ du noyau, où on peut les retrouver fréquemment entourées de mitochondries (Pl. V ; fig 4), ceci aussi bien dans les jeunes ovocytes que dans les plus gros.

Souvent la membrane nucléaire émet des digitations dont la constitution est identique à celle des saccules de réticulum endoplasmique (Pl. V, fig 2) et aussi, mais en nombre moindre, des vésicules de petite taille.

DISCUSSION

L'ensemble de ces observations ne prête pas à des remarques d'ordre physiologique, sinon indirectement et sans aucune garantie. C'est surtout du point de vue de la morphologie comparée que cette étude présente un intérêt.

Les nucléoles des ovocytes en vitellogenèse ont la structure classique de fibres et de grains d'ARN retrouvée dans n'importe quel type de cellules (MARINOZZI, 1963). Ils ne semblent pas avoir cependant de chromatine associée à moins que celle-ci ne soit constituée par les grains de 400 Å qui les entourent. Si on les compare aux nucléoles décrits dans les autres espèces d'Amphibiens, ils prêtent cependant à plusieurs remarques. D'abord nous n'avons pas observé dans cette espèce les nucléoles en anneaux décrits dans les ovocytes de *Triturus viridescens* et *Ambystoma mexicanum* (MILLER, 1964 ; CALLAN, 1966 ; LANE, 1967). Chez *Triturus helveticus* c'est seulement avant la vitellogenèse que l'on trouve des nucléoles creusés d'une énorme vacuole rappelant des anneaux, ce qui correspond à l'inverse de ce qui existe chez *Triturus viridescens* (LANE, 1967). D'autre part dans les jeunes ovocytes, indiscutablement les nucléoles sont constitués de fibrilles seulement. Ces observations sont en contradiction avec celles de WARTENBERG (1962) qui maintient lui aussi, que les nucléoles des jeunes ovocytes sont différents de ceux des ovocytes vitel-
lins, mais il les décrit comme étant uniquement constitués de grains, ceci chez *Xenopus laevis*, *Rana esculenta*, *Triturus alpestris* et *Ambystoma mexicanum*. Cependant LANE (1967) fait des observations identiques aux nôtres ; et MILLER (1962) ne fait pas de différences entre ces deux stades, comme la plupart des auteurs. On peut remarquer enfin que la disposition des deux zones fibrillaire et granulaire est différente de ce qu'elle est dans beaucoup d'autres espèces. Elles sont chez *Triturus helveticus* distinctes et juxtaposées, alors qu'elles sont peu

distinctes chez *Triturus viridescens* et *Ambystoma mexicanum* (LANE 1967) et que chez *Triturus cristatus* (Mc GREGOR 1967) le matériel granulaire entoure les fibrilles et inversement chez *Rana clamitans* (MILLER 1962).

Les problèmes posés par l'existence des micronucléoles sont beaucoup plus complexes. Tantôt, ils ne sont pas mentionnés (WISCHNITZER, 1967 ; MILLER, 1966), tantôt leur existence est niée (BROWN et RIS, 1959). On ne les a décrits que dans quelques espèces : *Xenopus laevis* (VAN GANSEN et SCHRAM, 1968). Nous en observons trois types différant par leurs proportions relatives en fibrilles et en grains de 150 Å et 400 Å. En l'absence de tests histochimiques et de marquage radioactif, il n'est pas possible de préciser s'il s'agit de trois sortes de nucléoles de nature différente ou de trois stades de l'évolution d'un seul type de micronucléole ; de même on ne peut pas savoir si leur formation s'effectue au contact des gros nucléoles ou des chromosomes, les images de nucléoles à protubérance seraient cependant un argument en faveur de la première hypothèse.

Les chromosomes sont constitués par les amas de formes diverses de grains de 400 Å, c'est du moins de telles figures que tous les auteurs décrivent comme étant des chromosomes (WISCHNITZER, 1967). Dans ces ovocytes leur étude au microscope électronique est comme dans toute cellule en général très décevante. Ces mêmes grains se retrouvent épars dans le nucléoplasme, ils rappellent par leur taille les grains péri-chromatiniens (SWIFT, 1963 ; GRANBOULAN et BERNHARD, 1963).

Dans le nucléoplasme nous observons aussi un organe énigmatique (Pl. V, fig 1) dont l'équivalent n'est décrit par aucun auteur. Dans l'ignorance de sa constitution chimique, nous pouvons cependant le rapprocher des corps

chromatoïdes décrits par SENTEIN (1960) dans la même espèce en microscopie optique ; ceux-ci de nature polysacchariques sont en effet constitués aussi d'une partie centrale arrondie et d'une partie périphérique irrégulière. Mais nous ne retrouverons pas de telles images dans le cytoplasme comme c'est le cas en microscopie optique.

La membrane nucléaire de ces ovocytes est banale identique à celle des ovocytes des autres espèces. Nous n'avons pas cependant observé les microtubules décrits par certains auteurs (WISCHNITZER, 1967) dans l'anneau des pores ; à fort grossissement nous les observons mais ils existent alors dans n'importe quelle structure voisine, et il y a lieu de se demander s'il ne s'agit pas d'un artéfact. La même remarque est à faire pour le réseau de fibrilles que l'on observe à fort grossissement dans l'intérieur des pores, comme celui que décrit KESSEL (1969a). Les émissions nucléaires sont particulièrement nombreuses dans les ovocytes d'Amphibiens, il est très difficile de préciser la nature de ce matériel, dans les jeunes ovocytes, il est constitué d'une substance spumeuse et diffuse et dans les ovocytes vitellins ce seraient plutôt des grains. Nous discuterons plus loin de la fonction de ces pores en même temps que ceux des lamelles annelées. L'émission de matériel nucléaire dans le cytoplasme est très courante, on l'a observée dans de nombreux types de cellules et ce matériel serait constitué d'ARN (STEVENS et SWIFT, 1966). Il faut cependant rappeler que dans l'ovocyte d'Amphibien BRACHET (1940) avait décrit l'émission de matériel Feulgen positif dans le cytoplasme à partir du noyau. Le ciment intermitochondrial constitué par ces émissions est lui aussi banal et décrit dans ces ovocytes à de nombreuses reprises ; sa fonction est inconnue, mais dans cette espèce, étant donné la faible part prise par les mitochondries dans la vitellogenèse, il ne semble pas jouer ce rôle d'information pour la synthèse des protéines vitellines dans les

mitochondries que lui attribue KESSEL (1969b) dans l'ovocyte de *Rana pipiens*.

CONCLUSION

Les noyaux des ovocytes de *Triturus helveticus* contiennent des nucléoles différents selon le stade de l'ovogenèse ; ils sont constitués uniquement de fibrilles dans les stades prévitellins, alors qu'ils sont à la fois fibrillaire et granulaire pendant la vitellogenèse. Il existe trois types de micronucléoles, semblant provenir des précédents, dont la structure varie par les proportions relatives de fibrilles et de grains de 150 à 400 Å. Ces derniers se retrouvent épars dans le nucléoplasme et constituent aussi les chromosomes. Du matériel nucléaire, formé en particulier par ces grains de 400 Å est émis dans le cytoplasme par les pores de la membrane nucléaire, il change alors de texture et peut constituer un ciment intermitochondrial.

- LES LAMELLES ANNELEES -

ET LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE

Dans les ovocytes d'Amphibiens, en général, et c'est le cas dans cette espèce, il existe fort peu de réticulum endoplasmique rugueux ou ergastoplasme, mais surtout du réticulum lisse. Nous n'avons pas trouvé une grande variété dans l'organisation du réticulum dans ces ovocytes, au contraire de ce que nous avons observé dans ceux d'espèces voisines. La plupart du temps, il est sous forme de saccules courts et larges (1,5 μ sur 0,15 μ) ou de vésicules à contenu dense (Pl. VI, fig 1). En fin d'ovogenèse le réticulum lisse se présente sous la forme de tubules de 3 à 5 μ de long sur 0,1 μ de large (Pl. VI, fig 2) et ceux-ci sont nettement plus abondants dans le cytoplasme cortical. L'ergastoplasme est rare, on ne le trouve que dans les jeunes ovocytes, les saccules ergastoplasmiques sont de petite taille (Pl. VI, fig 3). Les ribosomes sont éparés dans le cytoplasme, quelquefois on peut les trouver associés en polysomes, et souvent ils affectent une disposition radiaire autour des lipochondries (Pl. VI, fig 4) ; il doit s'agir là d'un artéfact, car si cette enclave lipidique se trouve contre le noyau, cette orientation radiaire se poursuit au delà de la membrane nucléaire dans les grains du nucléoplasme. Ces observations morphologiques n'ont que peu d'intérêt ; on cherche plutôt maintenant à savoir si ces grains ribosomiaux ne sont pas en réalité, tout au moins pour une partie, du glycogène B (THOMAS 1969) Nous nous sommes par contre intéressés à une forme de réticulum endoplasmique particulièrement abondante dans ces

ovocytes : les lamelles annelées, dont l'intérêt dépasse le cadre de l'ovogenèse puisqu'on les a observées dans diverses autres cellules.

De très nombreux travaux leur ont été consacrés depuis les premières observations de Mc CULLOCH et de LANSING et al., en 1952 sur l'oeuf d'*Arbacia*, de PALADE en 1955 sur les spermatocytes de Rat et d'AFZELIUS en 1955 sur l'oeuf d'Oursin. KESSEL en 1968, au cours d'une revue à peu près exhaustive des travaux effectués à cette date sur les lamelles annelées, a fait le point sur les nombreuses questions posées par l'étude de ces organites. Nous ne citerons donc que les plus marquants ou les plus récents de ces travaux, renvoyant pour le reste à l'article de KESSEL.

Les lamelles annelées ont d'abord été observées dans les ovocytes d'un grand nombre d'espèces de Vertébrés ou d'Invertébrés et aussi dans des cellules tumorales. On a longtemps supposé qu'elles étaient spécifiques de cellules à métabolisme actif. Mais on les a rencontrées depuis dans de nombreuses cellules somatiques de provenance très variée : myocarde, médullo et cortico-surréale, épididyme, pancréas exocrine, foie, cellules de Sertoli, tissu nerveux. Il n'en reste pas moins qu'elles sont plus nombreuses dans les cellules germinales. Dans les ovocytes d'Amphibiens, elles ont été observées à plusieurs reprises, chez *Rana pipiens* (KEMP, 1956a; WARD, 1965 ; KESSEL, 1968), chez *Rana esculenta* (LANZAVECCHIA 1960a), chez *Xenopus laevis* (BALINSKY et DEVIS, 1963), chez *Rana temporaria* (AJZENSHTADT et DETTLAFF, 1968), chez *Necturus maculosus* (KESSEL, 1963, 1968), chez *Triturus viridescens* (WISCHNITZER, 1960b), chez *Triturus helveticus* (SENTEIN et HUMEAU, 1966), et chez *Triturus alpestris* (SCHEER et FRANCK, 1969) ; nous les avons aussi observées dans les cellules de l'organe de Bidder chez le Crapaud *Bufo bufo* (HUMEAU et TEMPLE, 1969).

OBSERVATIONS

Nous avons trouvé des lamelles annelées en grand nombre dans les ovocytes de *Triturus helveticus* et nous avons fait des observations analogues dans ceux d'espèces voisines (*Pelodytes punctatus*, *Rana temporaria*, *Triturus marmoratus*).

Il existe des lamelles annelées à tous les stades mais en nombre variable. On en rencontre dans des stades très jeunes, avant le début de la vitellogenèse, dans des ovocytes de 100 à 200 μ de diamètre, en quantité relativement faible. Leur nombre va en croissant jusqu'à la vitellogenèse, pour rester constant pendant la plus grande partie de l'ovogenèse ; il y a ensuite une diminution et enfin une augmentation notable de leur nombre qui précède une chute brusque tout à fait en fin de maturation.

La répartition des lamelles annelées n'est pas uniforme. La plupart du temps elles se rencontrent n'importe où dans le cytoplasme et non pas de préférence dans la région périnucléaire ; sur le grand nombre de lamelles annelées observées nous n'en avons rencontrées qu'à deux reprises au contact de la membrane nucléaire. En fin d'ovogenèse il y a une très nette prédominance de ces organites dans le cytoplasme cortical. D'ailleurs de façon générale il semble que dans la mesure où leur nombre augmente, elles sont de plus en plus périphériques.

Dans les cas les plus typiques, elles sont empilées par groupe de 5 à 20 et quelquefois plus (Pl. VII, fig 1). Ces empilements ont des formes et des dimensions variables 4 à 7 μ de long sur 2 à 4 μ de large ; ils sont la plupart du temps rectilignes mais ils peuvent être aussi ondulés ou en forme de croissant. (Pl. VII, fig 2).

Chaque lamelle présente aussi bien en coupe transversale que tangentielle une structure de membrane nucléaire. La coupe tangentielle montre des pores de même dimension (800 Å environ de diamètre) et de même répartition que ceux de la membrane nucléaire (Pl. VII, fig 2 et 4). Sur la coupe transversale (Pl. VII, fig 3) on observe des variations assez importantes dans l'épaisseur des lamelles (200 à 1500 Å) et dans la distance qui les sépare (600 à 1000 Å). Le contenu intermembranaire est clair, comme l'espace périnucléaire. Les pores sont classiques, présentant en leur centre un diaphragme. Leur aspect est beaucoup plus net après fixation au MnO_4K ce qui révèle la présence d'ARN. (Pl. VII, fig 2 et 4) L'espace interlamellaire ne montre aucune structure spéciale: ni cytoplasme plus clair, ni ribosomes disposés régulièrement ni grains particuliers ; quelquefois il contient des organites tels que des mitochondries ou des vacuoles lipidiques. Les extrémités des lamelles peuvent être ouvertes ou fermées.

A certains stades de l'ovogenèse, en particulier dans les jeunes ovocytes et dans ceux qui, en période de vitellogenèse, contiennent peu de lamelles annelées, celles-ci sont souvent isolées et non groupées en empilements (Pl. VIII fig 1, 2 et 3), ou en tout cas, quand ceux-ci existent, ils sont incomplets et les lamelles y sont disposées irrégulièrement. Leurs pores, moins nombreux, sont répartis de façon quelconque ; certaines sont bifurquées et portent un ou plusieurs prolongements, exactement semblables aux vésicules de réticulum endoplasmique dispersées dans le cytoplasme. Ces figures se rencontrent en abondance dans ces deux catégories d'ovocytes et très peu dans les autres.

Dans ceux où elles sont relativement nombreuses les lamelles annelées présentent souvent par leurs extrémités des contacts avec du réticulum endoplasmique. Il s'agit toujours dans ce cas d'empilements très réguliers dont les lamelles semblent bourgeonner des vésicules par leurs deux bouts (Pl.

VIII, fig.4). En fin d'ovogenèse, les lamelles de ces empilements réguliers perdent leur annulation et se transforment en longs tubules de réticulum qui se séparent ensuite les uns des autres (Pl. VIII, fig 5).

De plus dans quelques cas, pendant la vitellogenèse nous avons observé la transformation des lamelles annelées en un type particulier de réticulum. Celui-ci se présente sous forme de saccules courts et larges, ouverts aux deux extrémités et de contenu clair. Ces saccules sont accolés, disposés en quinconce par groupe d'une dizaine au plus (Pl. IX, fig 1), séparés les uns des autres à intervalles réguliers par un ciment dense (Pl. IX, fig 2). Dans certains cas, il y a continuité entre ces saccules et les lamelles annelées (Pl. IX, fig 3). Tout se présente comme si ces dernières perdaient leur annulation, le ciment entourant les pores restant en place (Pl. IX, fig 5) et l'ensemble de l'empilement se fractionnant en amas plus petits de tubules. Ce type de réticulum est en relation avec des dictyosomes qui, à ce stade, présentent un aspect inhabituel, leurs saccules très gonflés ont en effet un contenu anormalement clair ; on observe des intermédiaires entre les vésicules de ce réticulum et les saccules de l'appareil de Golgi ou tout ou moins des bourgeonnements de ces saccules.

Si l'on excepte ces divers types de réticulum et les dictyosomes (et seulement indirectement) les lamelles annelées ne présentent de relation avec aucun autre organite, sinon une juxtaposition avec la membrane nucléaire dans quelques cas très rares.

DISCUSSION

La structure des lamelles annelées de l'ovocyte de

Triturus helveticus n'a rien de particulier ; elles sont dans l'ensemble identiques à celles qui ont été le plus fréquemment observées. Il faut noter, en plus de la classique ressemblance avec la membrane nucléaire, l'absence totale de cytoplasme particulier ou de formations particulières, fibrillaires ou granulaires, dans leur voisinage, comme on l'a souvent décrit dans divers types de cellules (KESSEL, 1968). Ce n'est donc pas la nature de ces formations inconstantes et accessoires qui donnera l'explication de la fonction des lamelles annelées, tout au moins dans ce qu'elle a d'essentiel. Il existe deux groupes de problèmes concernant les lamelles annelées, qui sont liés en partie à l'étude de leur structure, et au sujet desquels l'unanimité est loin d'être faite ; il s'agit de ceux concernant leur origine et leur fonction.

ORIGINE DES LAMELLES ANNELEES

Les relations des lamelles annelées avec le réticulum ou l'ergastoplasme sont banales, et décrites dans la grande majorité des cas. Dans l'ovocyte que nous étudions, il y a ceci de particulier que l'on ne trouve pas toujours le même réticulum au contact des lamelles annelées. Avant de les analyser il faut noter la variabilité du nombre de lamelles annelées au cours de l'ovogenèse. Il y a d'abord une augmentation de leur nombre, puis une faible diminution et enfin un nouvel accroissement suivi d'une chute brutale et quasi totale en fin d'ovogenèse (nous n'avons pas observé de lamelles annelées dans les oeufs pondus et fécondés). Il y a donc des stades pendant lesquels elles se construisent et d'autres pendant lesquels elles se détruisent. Or le réticulum en relation avec elles est différent selon ces stades. Comme par ailleurs nous n'avons observé aucun contact entre membrane nucléaire et lamelles annelées, mais seulement une

simple juxtaposition, et dans un nombre infime de cas, nous devons supposer que ces dernières naissent à partir du réticulum et peuvent le reconstituer, les deux processus se présentant sous des aspects morphologiquement différents.

L'opinion généralement admise au sujet de l'origine des lamelles annelées est cependant différente. Leur ressemblance exacte avec la membrane nucléaire a évidemment conduit tous les auteurs à lui faire jouer un rôle dans leur genèse. Un certain nombre d'hypothèses ont été avancées : les lamelles annelées seraient des restes de membrane nucléaire de la mitose précédente (AFZELIUS, 1955), ou les résultats de sa fragmentation (GAY, 1955 ; SWIFT, 1956), ou encore elles se formeraient par une sorte de reduplication (SWIFT, 1956 ; BARER et al. 1960 ; HARRISSON, 1966) ou de délamination (REBHUN, 1956) de la membrane nucléaire, ou encore par la jonction de vésicules bourgeonnant à partir de cette membrane (OKADA et WADINGTON, 1959). Cette dernière hypothèse est vérifiée dans le cas des ovocytes de certains Tuniciers, de *Necturus maculosus* et de *Rana pipiens* (KESSEL, 1963, 1965, 1968).

Dans les ovocytes de *Triturus helveticus* correspondant à des stades de construction de lamelles annelées, c'est-à-dire en contenant peu par rapport aux stades immédiatement suivants, elles sont ou isolées ou en amas désorganisés, et souvent bifurquées, avec une annulation irrégulière ; il semble que ce soit des images de leur formation par adjonction de saccules de réticulum les pores se formant aux points de jonction d'abord, et entre eux ensuite. Le fait que ces lamelles soient bifurquées et, d'autre part, la présence entre elles, dans les amas bien formés, d'organites cytoplasmiques montrent d'ailleurs qu'elles ne peuvent pas provenir d'une délamination de la membrane nucléaire, mais de la jonction de saccules de réticulum ; si l'on considère

que les vésicules décrites par KESSEL sont du réticulum endoplasmique, ce qu'il observe n'est qu'un "télescopage" de ce qui se passe chez *Triturus helveticus*. (Récemment (1969c) KESSEL admet l'origine des lamelles annelées à partir du réticulum dans l'ovocyte de *Rana pipiens*.)

On peut en effet considérer que membrane nucléaire et réticulum ne sont pas fondamentalement différents ; la membrane nucléaire donne souvent des diverticules de réticulum ou des vésicules qui migrent dans le cytoplasme (dans l'ovocyte de *Necturus maculosus* et de *Rana pipiens*, cette activité est particulièrement intense) ; elle se transforme en réticulum au début de la mitose pour se reconstituer plus tard. Il faudrait donc considérer la membrane nucléaire et les lamelles annelées comme une même différenciation de réticulum, avec passage dans tous les sens de l'une à l'autre de ces trois formations. Les lamelles annelées peuvent en effet se transformer en réticulum, le fait a souvent été observé.

Il nous semble donc plausible d'assimiler lamelles annelées et membrane nucléaire et d'en faire une même forme spécialisée et transitoire de réticulum, sans qu'il y ait fondamentalement et nécessairement de filiation entre ces deux formations. Nous rejoignons là une hypothèse formulée par SWIFT en 1956. Et cette idée est renforcée par des observations faites dans les cellules de l'organe de Bidder chez le Crapaud (HUMEAU et TEMPLE 1969) ; ces cellules suivent une évolution marquée notamment par la structure de la membrane nucléaire qui présente successivement plusieurs états caractéristiques : pores rares ou nombreux, espace périnucléaire dense, cytoplasme périnucléaire clair avec de gros grains, diaphragme des pores prolongé par un grain ; or pour chacun de ces stades les lamelles annelées de ces cellules présentent rigoureusement la même structure.

FONCTION DES LAMELLES ANNELEES

Elle reste tout à fait énigmatique et les hypothèses à son sujet sont multiples : transfert d'information génétique du noyau vers le cytoplasme (RUTHMANN, 1958 ; SWIFT, 1956), organite fournisseur de membranes et de réticulum (BALINSKY et DEVIS, 1963), ergastoplasme spécialisé en vue de certaines fonctions restant à déterminer (KESSEL, 1968). Aucune de ces hypothèses n'a été vérifiée, et même, en ce qui concerne la première, l'expérimentation a donné des résultats négatifs (GANION et KESSEL, 1965 ; KESSEL, 1968).

Dans notre optique il faudrait chercher une fonction commune à la membrane nucléaire et aux lamelles annelées ; elle doit être recherchée au niveau de la différenciation morphologique commune qui est représentée par les pores et les anneaux. Dans le cas de la membrane nucléaire on sait que les pores servent au passage, ou, en tout cas, à la sélection du matériel nucléaire en transit vers le cytoplasme (FELDBER, 1965). Les lamelles annelées qui baignent dans un cytoplasme homogène ne jouent sûrement pas un tel rôle. En revanche la substance constituant les anneaux des pores peut être responsable d'un rôle métabolique spécial. Dans le cas de la membrane nucléaire, il est admis que le matériel traversant les pores subit certaines modifications visibles sur le plan morphologique. On sait que les anneaux sont constitués d'ARN et que le grain central du pore contient un autre ARN (MENTRE, 1969) ; les pores de la membrane nucléaire peuvent donc constituer un site actif métabolique. Les membranes annelées jouent probablement un rôle identique et de la même façon.

Cette fonction reste à déterminer. Tout porte à croire que les lamelles annelées sont un réticulum, ou quel-

quefois un ergastoplasme, spécialisé : joue-t-il un rôle dans certaines synthèses ? La présence d'ARN au niveau des pores de ces lamelles reste à démontrer mais elle est probable. En tout cas nous devons noter que les ovocytes contenant le plus grand nombre de lamelles annelées sont ceux qui montrent la vitellogenèse la plus intense ; le premier sommet correspond en effet à la période de vitellogenèse à partir de l'appareil de Golgi ; le second coïncide avec la période de vitellogenèse par pinocytose, et les lamelles annelées sont alors en abondance précisément dans le cytoplasme cortical. Nous n'avons pas cependant observé de relations entre vitellus, protéique ou lipidique, et lamelles annelées, comme c'est le cas dans les ovocytes de certains animaux (*Triturus viridescens*, WISCHNITZER, 1960b; *Acmaea*, KESSEL, 1968). D'autre part, il est remarquable qu'elles peuvent se transformer en un réticulum de type spécial, lui-même en relation avec des dictyosomes ; en fin d'ovogenèse aussi le réticulum tubulaire provenant des lamelles annelées se trouve fréquemment au voisinage des dictyosomes. Nous ne pensons pas comme WARD (1965) que ce soit là un processus de formation du Golgi, mais plutôt le signe de l'activité des lamelles annelées, analogue à celle de l'ergastoplasme banal (FRIEND, 1965, JAMIESON et PALADE 1968), leur produit de synthèse étant stocké sans doute dans ces dictyosomes.

CONCLUSION

Les lamelles annelées ne proviennent pas de la membrane nucléaire, dans le cas précis de cet ovocyte, mais plutôt du réticulum endoplasmique. Il faut considérer les lamelles annelées et la membrane nucléaire comme une forme spécialisée et transitoire de réticulum. Celui-ci peut d'ailleurs

être reconstitué dans les deux cas. Cette spécialisation correspondrait à un accroissement de métabolisme, peut-être en relation avec la vitellogenèse dans le cas de l'ovocyte. La fonction exacte des lamelles annelées reste inconnue, elle a sans doute son siège au niveau des anneaux eux-mêmes. Un problème cytologique important est posé : sous quelle influence et par quel mécanisme le réticulum endoplasmique d'une cellule devient-il annelé, constituant ainsi une membrane nucléaire ou des lamelles annelées ?

LA VITELLOGENESE

L'étude du vitellus revêt de nombreux aspects : origine de ses constituants protéiques ou polysaccharidiques, transformation d'organites de l'ovocyte en plaquettes vitellines, ultrastructure de ces plaquettes, fonctions du vitellus. Les travaux consacrés à ces diverses questions, dans des espèces très variées, sont extrêmement nombreux ; nous ne mentionnerons que les plus récents ou les plus marquants et, bien entendu, ceux qui intéressent l'ovocyte d'Amphibien. D'ailleurs dans ce travail nous nous limitons à l'étude de la transformation des organites cytoplasmiques en plaquettes vitellines, c'est-à-dire à la vitellogenèse proprement dite ; elle peut apporter une contribution à la connaissance des autres aspects que nous avons mentionnés.

Nous avons vérifié l'essentiel des observations de WITTEK (1952) sur la vitellogenèse chez les Amphibiens qui constituent la dernière mise au point des travaux effectués sur cette question en microscopie optique. Dans l'ovocyte de *Triturus helveticus*, il y a, comme chez les autres Amphibiens deux poussées de vitellogenèse. L'une, précoce, à point de départ périphérique et à évolution centripète, constitue la vitellogenèse primaire ; elle donne des plaquettes de taille différente, de plus en plus importante du pôle animal vers le pôle végétatif, qui occuperont presque tout le cytoplasme de l'ovocyte en fin de vitellogenèse. La deuxième poussée, dont le début est plus tardif, se produit dans la région périnucléaire et son évolution est centrifuge ; elle est quantitativement moins importante. Chez *Triturus helveticus*, cette vitellogenèse secondaire prend naissance dans des îlots basophiles dispersés autour du noyau et non pas de façon dif-

fuse comme dans d'autres espèces. Il en résulte des plaquettes de petite taille qui se dispersent et migrent entre les grains de vitellus primaire. En microscopie optique on distingue toujours nettement ces deux sortes de plaquettes, celles de vitellus secondaire sont PAS positives, celles de vitellus primaire sont PAS négatives sauf sur leur pourtour. Le vitellus secondaire migre jusqu'au tiers interne du rayon de l'ovocyte. Il faut noter l'absence de noyau de Balbiani dans cette espèce, alors qu'on le trouve fréquemment dans d'autres espèces d'Amphibiens, Anoures ou Urodèles.

L'ultrastructure des plaquettes vitellines est bien connue en particulier depuis les travaux de KARASAKI (1963a), WALLACE (1963), HONJIN et NAKAMURA (1967). Elles sont constituées de trois parties ; un noyau central à structure paracrystalline, une zone granuleuse périphérique et une membrane simple externe.

Au cours de la dernière décade, il est paru un certain nombre de travaux de microscopie électronique sur l'origine des plaquettes vitellines chez les Amphibiens. Dans aucun cas on ne fait la distinction entre vitellus primaire et vitellus secondaire. Ces observations sont plus complètes chez les Anoures que chez les Urodèles.

Chez les premiers il semble y avoir une certaine homogénéité, le rôle des mitochondries est en effet prédominant dans beaucoup de cas : chez *Xenopus laevis* (WARTENBERG, 1962 ; BALINSKY, et DEVIS, 1963) chez *Rana pipiens* (WARD, 1962), chez *Rana temporaria* (WARTENBERG, 1962), chez *Rana dalmatina* (GENDRE et CAMBAR, 1964) ; on note aussi une origine du vitellus à partir du cytoplasme chez *Rana pipiens* (KEMP 1956b) et à partir de corps multivésiculaires chez *Rana esculenta* (LANZAVECCHIA, 1963). Chez les Urodèles la question est beaucoup plus complexe et les travaux effectués sur ce

sujet sont moins nombreux : chez *Triturus alpestris* et *Ambystoma mexicanum* (WARTENBERG, 1962), chez *Necturus maculosus* (KESSEL, 1963) et chez *Triturus viridescens* (WISCHNITZER, 1964a; HOPE, HUMPHRIES et BOURNE, 1964). Dans ces espèces la vitellogenèse semble faire intervenir des organites très divers : mitochondries, dictyosomes, vésicules de pinocytose, cytosomes, chromidies, simultanément et en association. Nous avons tenté d'élucider ce problème dans l'ovocyte de *Triturus helveticus* non encore étudié à cet égard, et en faisant la distinction entre vitellus primaire et secondaire.

OBSERVATIONS

Nous ne nous sommes pas attachés à l'étude des mitochondries, signalons seulement leur présence constante dans les ovocytes d'une taille supérieure à 200 μ et l'accroissement de leur nombre au cours de l'ovogenèse. Elles apparaissent donc avant le début de la vitellogenèse protéique ; leur répartition est quelconque au milieu des plaquettes de vitellus protéique. Leur structure est classique, identique à celle que l'on a maintes fois décrite : îlot de substance amorphe arrondi ou de contour irrégulier sans membrane périphérique (Pl. VI, fig 4).

Il apparaît que le vitellus primaire se forme selon quatre modes distincts les uns des autres et le vitellus secondaire selon un autre processus.

FORMATION DU VITELLUS PRIMAIRE A PARTIR DES MITOCHONDRIES

Dans les stades jeunes de l'ovogenèse, au début de la vitellogenèse, c'est-à-dire dans les ovocytes de 300 à

600 μ de diamètre environ, il existe un processus vitello-gène intramitochondrial localisé dans le cortex seulement de ces ovocytes.

Les mitochondries normales sont toutes de forme allongée ayant 0,1 μ de large sur 0,5 à 2 μ de long. Leur matrice est très dense, et les crêtes à contenu clair sont nombreuses et disposées transversalement par rapport à leur grand axe (Pl. X, fig 1). Dans certaines d'entre elles les crêtes perdent cette orientation pour devenir progressivement parallèles à l'axe de la mitochondrie (Pl. X fig 2), ou bien la plupart de ces crêtes disparaissent et celles qui subsistent s'étirent, ou bien elles fusionnent entre elles ; on observe en effet des mitochondries ne possédant que trois ou quatre crêtes longitudinales, qui les parcourent d'un bout à l'autre et qui peuvent être reliées à l'espace péri-mitochondrial ou en être indépendantes (Pl. X, fig 3).

Il se dépose alors à l'intérieur des crêtes un matériel dense sous forme de grains de 70 Å environ, disposés à intervalles réguliers sur une ligne qui représente l'axe de la crête (Pl. X, fig 6). Puis ces grains augmentent de taille et changent de forme et d'orientation. Ils deviennent des bâtonnets joignant les deux bords des crêtes et disposés selon un angle de 45° environ avec ceux-ci (Pl. X, fig 4) ; dans la matrice se dépose un matériel identique. Progressivement la matrice et les crêtes acquièrent la même densité (Pl. X, fig 4) ; il se forme alors un réseau dont les deux directions font un angle de 45° environ (Pl. X, fig 5 et 8) et que l'on retrouve dans les plaquettes vitellines complètement élaborées ; il s'agit donc bien d'un réseau vitellin et l'on peut penser qu'il est à l'origine du noyau cristallin de certaines plaquettes. Celles-ci semblent se former en grossissant ce premier réseau par adjonction de matériel nouveau grâce à l'activité de la zone amorphe qui le borde après disparition de la membrane mitochondriale.

Ce mode de vitellogenèse est très limité ; cette transformation n'affecte qu'un petit nombre de mitochondries, le vitellus formé de cette manière est certainement peu abondant.

FORMATION DU VITELLUS PRIMAIRE A PARTIR DES DICTYOSOMES

Dans les jeunes ovocytes en début de vitellogenèse, donc d'une taille de 250 μ au minimum, du vitellus se forme à partir des dictyosomes ; ceci à la périphérie de l'ovocyte, la "finition" des plaquettes s'effectuant de plus en plus profondément dans le cytoplasme. Ce mode de vitellogenèse dure pendant une grande partie de l'ovogenèse, jusqu'à ce que l'ovocyte ait atteint une taille de 600 à 700 μ ; il est donc quantitativement beaucoup plus important que le précédent

Les dictyosomes sont normalement répartis au hasard dans le cytoplasme de l'ovocyte avec cependant une prédominance dans la région périnucléaire et dans la région corticale. C'est dans cette dernière localisation qu'on les observe le plus fréquemment à ce stade. Normalement ils sont constitués d'un empilement de quatre ou cinq saccules à contenu assez clair entourés de vésicules peu nombreuses (Pl. XI, fig 1). A ce moment ils ont toujours la même structure, mais ils sont de plus grande taille et le contenu des saccules est plus dense, et surtout ils sont entourés d'un plus grand nombre de vésicules, à contenu dense elles aussi. (Pl. XI, fig 2).

Ces vésicules de petites dimensions (400 à 800 Å de diamètre) sont d'abord dispersées sans ordre autour des dictyosomes ; elles se réunissent ensuite par groupes d'une vingtaine au moins (sur une coupe), formant ainsi des amas arrondis de 0,25 à 1 μ de diamètre près des dictyosomes (Pl. XI, fig 3). Il arrive que ceux-ci disparaissent, complètement transformés en amas de vésicules (Pl. XI, fig 5).

Au centre de ces formations les vésicules fusionnent entre elles, alors qu'à la périphérie on les distingue encore nettement (Pl. XI, fig 4 et 5). Cette fusion donne naissance à une substance assez dense, finement granuleuse (Pl. XI, fig 6). C'est à ce moment qu'apparaît une membrane autour de ces amas, souvent discontinue et semblant provenir des saccules de réticulum endoplasmique qui sont nombreux autour de ces précurseurs de vitellus (Pl. XI, fig 6 et Pl. XII, fig 1). La texture de la substance granuleuse devient plus serrée et sa densité augmente, ceci en commençant par le centre de cette formation (Pl. XII, fig 1). L'on y voit apparaître un réseau paracristallin identique à celui des plaquettes vitellines (Pl. XII, fig 2).

Au cours des stades suivants il y a accroissement de taille de l'ensemble du grain vitellin et en même temps de la zone paracristalline. On arrive ainsi à une plaquette vitelline de petite taille (3μ) comprenant les trois parties classiques.

Pendant cet accroissement, des saccules de réticulum sont toujours au contact de la plaquette, et quelquefois sur tout son pourtour et par endroits sur plusieurs couches.

ORIGINE COMPLEXE DU VITELLUS PRIMAIRE

Pendant ces mêmes stades, donc toujours dans des ovocytes de 250μ à 700μ , nous rencontrons des images d'interprétation difficile et en nombre assez important. Elles représentent des formations de petite taille ($0,5$ à 2μ), sensiblement la même que celle des précurseurs vitellins, constituées de façon très diverse, d'un matériel granuleux souvent hétérogène contenant des densifications importantes et entourées le plus souvent d'une membrane (Pl. XII, fig 3). Elles

contiennent souvent des mitochondries plus ou moins intactes (Pl. XII, fig 3), des vésicules identiques à celles de l'appareil de Golgi décrites plus haut (Pl. XII, fig 4), des figures myéliniques (Pl. XII, fig 6). Souvent y est associée une zone particulière de texture très fine non séparée du cytoplasme par une membrane (Pl. XII, fig 4 et 5).

Ces images se trouvent dans le cytoplasme cortical des ovocytes : elles sont de plus en plus complexes du bord vers le centre ; et à quelque distance de la membrane plasmique, la taille de ces formations a beaucoup augmenté (4μ) et elles contiennent souvent un noyau sombre à structure paracrystalline (Pl. XII, fig 5). Il semble donc qu'il s'agit d'un processus vitellogène distinct du précédent, dont l'importance n'est pas négligeable et qui fait intervenir divers types d'organites, mais dont la séquence est quasi impossible à déterminer tant ces images sont complexes.

FORMATION DU VITELLUS PRIMAIRE PAR PINOCYTOSE

Ce processus vitellogène n'intervient que beaucoup plus tard, quand ceux que nous venons de décrire ne fonctionnent plus, pendant la deuxième moitié de l'ovogenèse, c'est-à-dire dans les ovocytes ayant une taille supérieure à 700μ . Il dure pratiquement jusqu'à la fin de l'ovogenèse ; une grande quantité de vitellus est donc fabriquée par ce système.

Avant ce stade le cortex de l'ovocyte est le siège d'une activité pinocytotique très faible. C'est seulement à ce moment qu'elle devient importante, la plupart des espaces intervillositaires sont occupés par une vésicule en formation ou déjà détachée dans le cytoplasme sous-jacent (Pl. XIII fig 1).

Ces vésicules de 800 Å environ de diamètre ont un contenu dense non uniformément réparti, seulement au centre et à la périphérie en un mince liseré.

En avançant vers l'intérieur de l'ovocyte elles fusionnent entre elles, mais progressivement et non pas simultanément comme dans le cas des vésicules golgiennes (Pl. XIII fig 2 et 3). Il se forme ainsi des vésicules à membrane simple, à contenu granuleux et uniformément réparti dont la taille varie entre 0,2 et 0,4 μ . (Pl. XIII, fig 3). Là aussi la texture de cette substance se modifie en devenant plus serrée, (Pl. XIII, fig 5). On a dès lors de petites plaquettes vitellines qui augmentent de taille par adjonction de vésicules de réticulum endoplasmique ou de vésicules de pinocytose atteignant cet endroit où apparaissent les premières plaquettes, déjà à quelque distance (20 μ environ) du cortex de l'ovocyte.

STRUCTURE DES PLAQUETTES VITELLINES

Toutes ces voies fournissent des plaquettes vitellines de petite taille dont l'accroissement se fait à mesure qu'elles migrent vers le centre de l'ovocyte et que celui-ci augmente de diamètre. Le fait le plus caractéristique est la présence quasi constante de réticulum endoplasmique autour de ces plaquettes, sous forme de saccules ou de vésicules pendant la plus grande partie de l'ovogenèse et de tubules à la fin de la maturation de l'ovocyte (Pl. XIV, fig 1). Ces plaquettes ont la structure caractéristique décrite par de nombreux auteurs dans d'autres espèces d'Amphibiens : membrane simple externe, couche granuleuse comprenant deux régions, l'une assez claire et l'autre dense situées aux deux "pôles" de la plaquette, noyau central paracristallin (Pl. XIV, fig 2) Ce noyau a des aspects différents selon l'incidence de la cou-

pe ; soit il n'apparaît aucun réseau, soit ce réseau est constitué de lignes parallèles séparées les unes des autres par une distance d'environ 70 Å (Pl. XIV, fig 3), soit il est constitué d'éléments de 20 Å alignés selon deux directions faisant entre elles un angle de 40 Å environ (Pl. XIV fig 4), ou bien il est formé de lignes parallèles plus fines séparées les unes des autres par une distance beaucoup moindre, 40 Å environ (Pl. XIV, fig 5).

Nous avons effectué un certain nombre de mesures destinées à mettre en évidence d'éventuelles différences entre les plaquettes vitellines formées selon ces divers processus. Nous avons choisi de comparer les distances entre deux lignes consécutives du réseau paracristallin dans le cas de l'image la plus simple, celle où elles sont séparées par une distance d'environ 70 Å. Qu'il s'agisse des deux groupes de plaquettes provenant des dictyosomes et des vésicules de pinocytose, ou bien de l'ensemble des plaquettes sans distinction d'origine (ce qui peut être d'ailleurs difficile à déterminer) nous obtenons toujours une moyenne de 70 Å, mais la courbe a deux sommets, l'un à 70 Å, et l'autre à 80 Å avec une chute brusque sur les valeurs plus élevées.

FORMATION DU VITELLUS SECONDAIRE

Dans les îlots basophiles périnucléaires, la microscopie électronique montre de nombreuses petites plaquettes vitellines d'une structure particulière dans un cytoplasme banal, sans particularité par rapport aux autres régions de l'ovocyte, sinon une très grande abondance de ribosomes quelquefois associés en polysomes. Ce vitellus secondaire ou tardif se forme pendant la deuxième moitié de l'ovogénèse.

Il est difficile de déterminer la séquence de sa formation ; il est certain en tous cas qu'apparaît dans l'in-

térieur de petits saccules de réticulum endoplasmique un matériel dense et granuleux (Pl. XV, fig 1 et 2). Ces saccules augmentent de taille ensuite pour atteindre $1\text{ }\mu$ sans qu'on y voit apparaître de réseau. En même temps le centre de ces formations prend un aspect plus dense et plus serré (Pl. XV fig 3 et 4), tandis que leur périphérie présente de nombreuses indentations. Il apparaît d'autre part de petites plaquettes ($0,2\text{ }\mu$) possédant à la place du centre dense des précédentes un réseau paracristallin dont les caractéristiques, quelle que soit l'incidence de la coupe, sont les mêmes que celles des plaquettes de vitellus primaire. Elles s'agglomèrent, se disposant dans n'importe quel sens de sorte que les réseaux sont discordants (Pl. XV, fig 5). Puis il y a rapprochement de ces noyaux paracristallins laissant entre eux des méats plus clairs, tandis que les réseaux s'estompent (Pl. XV, fig 6). La plaquette définitive ne semble pas posséder de membrane, elle n'a pas de réseau mais elle est constellée de taches claires qui sont sans doute les restes des méats ; sa texture est la même que celle de la zone granuleuse périphérique des plaquettes de vitellus primaire (Pl. XV, fig 7). Le réticulum endoplasmique semble donc jouer un rôle important dans la genèse de ces grains vitellins dépourvus de réseau paracristallins, sauf, pour certains, pendant un stade de leur formation.

DISCUSSION

Dans l'ovocyte de *Triturus helveticus* les plaquettes vitellines se forment donc selon plusieurs processus. Le vitellus primaire prend naissance à partir de mitochondries, à partir de dictyosomes, et selon un troisième processus faisant intervenir ensemble appareil de Golgi, mitochondries et hyaloplasme ; ceci pendant la première moitié de l'ovogenèse, tandis que pendant la deuxième moitié ce sont des vésicules de pinocytose qui donnent naissance au vitellus. Le vitellus secondaire se forme, quant à lui, à partir du réticulum endoplasmique. A la suite de l'examen de ces différents cas, deux questions se posent : ces divers processus fournissent-ils des plaquettes vitellines différentes ? Le matériel protéique qui les compose est-il d'origine endogène ou exogène ?

L'origine mitochondriale du vitellus est décrite dans un grand nombre d'espèces. Soupçonnée depuis fort longtemps avec le seul examen au microscope optique dans des espèces très variées d'Invertébrés surtout, et même chez les Amphibiens (*Rana*, NATH, 1931), elle a été formellement reconnue pour la première fois au microscope électronique par FAVARD et CARASSO (1958) dans l'ovocyte de la Planorbe. Depuis, c'est à de nombreuses reprises qu'ont été faites des observations analogues. Chez les Amphibiens les mitochondries prennent part de façon diverses selon les espèces à la formation du vitellus. Chez *Rana esculenta* (WARTENBERG, 1962) il se forme dans une des extrémités gonflée des mitochondries, ou dans la matrix de mitochondries fragmentées (LANZAVECCHIA, 1961). Dans l'ovocyte de *Rana pipiens* (WARD, 1962) il y a formation à l'intérieur d'une crête d'un matériel cristallin qui sera à l'origine du noyau de la plaquette, cette crête se gonflant à mesure que la structure cris-

talline augmente de taille, tandis que les autres disparaissent. Chez *Xenopus Laevis* (BALINSKY et DEVIS, 1963), il y a réarrangement des crêtes, dans des fragments de mitochondries, en lamelles plus ou moins concentriques qui se transforment en substance vitelline. Dans l'ovocyte de *Triturus viridescens* (HOPE et al 1964), il y a participation de mitochondries transformées ou dégénérées à la formation du vitellus. Le processus que nous décrivons ici est entièrement différent de tous ceux-ci. Il y a conservation de la mitochondrie dans son entier et participation des crêtes et de la matrix pour former le réseau paracristallin. Il s'agit bien en effet d'un tel réseau, ses caractéristiques sont celles du vitellus et s'éloignent beaucoup des structures périodiques de signification inconnue trouvées ces dernières années dans les mitochondries de nombreuses cellules (V. MAGALHAES et MAGALHAES, 1968).

On a décrit aussi chez des espèces très variées la formation de vitellus à partir de l'appareil de Golgi, isolément ou en association avec d'autres organites. Lorsque les dictyosomes produisent du vitellus, dans la plupart des cas les vésicules golgiennes se transforment chacune en une plaquette vitelline qui augmentera ensuite de taille. C'est le cas chez l'Oursin (AFZELIUS, 1956), chez des Mollusques (BOLOGNARI, 1960 ; WORLEY et MORIBER, 1961 ; ANDERSON, 1965), chez des Crustacés (DUMONT, 1965) et chez des Tuniciers (HSU, 1962 ; KESSEL, 1966). Dans d'autres cas l'appareil de Golgi donne des éléments qui en s'associant à d'autres organites (réticulum, vésicules de pinocytose, chromidies) constituent une plaquette vitelline. C'est le cas chez *Cipangopaludina* (YASUZUMI et TANAKA, 1965), chez *Lebistes* (DROLLER et ROTH, 1964), chez *Triturus alpestris* et *Ambystoma mexicanum* (WARTENBERG, 1962). Chez les Amphibiens il ne semble donc pas que l'appareil de Golgi joue un rôle important dans les processus vitellogènes (rôle soupçonné là encore avec le seul examen en

microscopie optique par HIBBARD en 1928 chez *Discoglossus*). Dans l'ovocyte de *Triturus helveticus* il est loin d'être négligeable, puisque les dictyosomes fournissent à eux seuls une grande quantité de vitellus pendant la première moitié de l'ovogénèse, mais par un processus différent de ceux qui ont été antérieurement décrits ; en effet les vésicules golgiennes ne se transforment pas une par une en grains de vitellus, mais elles confluent pour donner à plusieurs une plaquette, sans l'aide d'autres organites. C'est supposer que les dictyosomes sont nombreux à ce stade (et ils le sont effectivement) ou que leur activité est très intense. Ce n'est cependant pas suffisant pour expliquer le nombre de plaquettes vitellines formées pendant ce stade de l'ovogénèse.

Le processus complexe de vitellogénèse dans lequel interviennent simultanément mitochondries, dictyosomes et une substance amorphe cytoplasmique est donc relativement important. Il donne des figures difficiles à interpréter, mais qui ne sont sûrement pas des images de dégénérescence ; ces ovocytes ne présentent pas d'autres signes d'atrésie et dans les ovocytes atrétiques les plaquettes vitellines ne dégénèrent pas de cette façon. Nous retrouvons là l'intervention du cytoplasme fondamental comme dans l'ovocyte de *Rana pipiens* (KEMP, 1956a). Mais ce processus vitellogène ressemble beaucoup à celui décrit par WARTENBERG chez *Triturus alpestris* et *Ambystoma mexicanum* ; cependant il n'y a pas la participation de chromidies (sortes d'éléments émis par le noyau) ou de cytosomes (vésicules de pinocytose).

La pinocytose joue un rôle très important pendant la deuxième partie de l'ovogénèse. Son intervention dans les processus vitellogènes est connue dans de nombreuses espèces, en particulier chez les Arthropodes (TELFER, 1961 ; KESSEL et BEAMS, 1963 ; FAVARD-SERENO, 1964 ; BEAMS et KESSEL, 1969 ; ANDERSON, 1969), les Mollusques (ANDERSON, 1964) et les Poissons (DROLLER et ROTH, 1964). Ou bien les vésicules de pinocy-

tose fournissent à elle seule le vitellus, ou bien elles sont associées à d'autres éléments, en particulier du réticulum endoplasmique, comme c'est le cas dans les ovocytes d'Urodèles étudiés par WARTENBERG. Ici à elle seule la pinocytose fournit des plaquettes entières, mais de petite taille, qui iront à maturité grâce à l'apport de réticulum endoplasmique.

Celui-ci intervient dans tous les cas. Il ne donne pas de jeunes plaquettes de vitellus primaire mais il intervient dans leur croissance puisque les saccules de réticulum sont les seuls organites au contact des plaquettes en voie d'accroissement. Ceci est fréquemment décrit, en particulier dans les ovocytes d'Arthropodes et de Mollusques (RECOURT, 1961 ; BEAMS et KESSEL, 1963 ; FAVARD-SERENO, 1964 ; DROLLER et ROTH, 1964). Chez *Triturus helveticus* le réticulum endoplasmique joue en outre un rôle prépondérant dans la vitellogenèse secondaire. Il semble que dans un tel métabolisme il soit uniquement un organe de condensation et de stockage.

Dans sa phase terminale la vitellogenèse fait intervenir, chez les Amphibiens, un nouveau processus, centrifuge, localisé dans la région périnucléaire et particulièrement net chez *Triturus helveticus*. MORGENTHALER (1951) chez *Triturus alpestris* et WITTEK (1952) chez *Triturus helveticus* et *Xenopus laevis* observent au microscope optique cette vitellogenèse secondaire ou tardive. Au microscopie électronique peu d'observations ont été faites. KEMP (1953) admet l'existence de ce vitellus chez *Rana pipiens* sans toutefois le mettre en évidence. BALINSKY et DEVIS (1963) remarquent qu'au voisinage de la vésicule germinative se forment des plaquettes vitellines de petite taille dans les ovocytes de plus de 500 μ de diamètre chez *Xenopus laevis* et envisagent un rapprochement avec le vitellus secondaire. VAN GANSEN et SCHRAM (1968) remarquent dans le cytoplasme périnucléaire des ovocytes de la même espèce des plaquettes de 2 μ qui pré-

sentent comme celles que nous observons des réseaux conglo-mérés et discordants. Il faut souligner que cette vitellogénèse se produit dans des îlots basophiles où l'on trouve de nombreux ribosomes.

Chez les autres Amphibiens dont la vitellogenèse est connue on ne trouve pas une telle multiplicité des processus vitellogènes. Chez les Anoures les mitochondries jouent un rôle prédominant et dans quelque cas il y a coexistence de deux modes différents, en particulier chez *Rana pipiens* (WARD 1962) et chez *Rana esculenta* (LANZAVECCHIA, 1963).

Chez les Urodèles les organites intéressés sont nombreux mais ils interviennent en association (WARTENBERG, 1962) Ici il n'y a pas une telle association d'organites, sauf dans un cas, mais juxtaposition de processus distincts où ils jouent leur rôle indépendamment les uns des autres. Ne considérant que le vitellus primaire nous n'observons pas de différences morphologiques entre les plaquettes de provenance différente. Il est d'ailleurs très difficile d'établir des données numériques sur les caractéristiques du réseau : nous trouvons une moyenne de 70 Å entre deux lignes consécutives du réseau. Ces chiffres qui s'écartent de cette valeur sont peut-être dus simplement à l'incidence de la coupe. Nous n'accordons par conséquent aucune valeur à ces mesures et c'est grâce à des procédés comme la diffraction aux rayons X que pourrait être mise en évidence une éventuelle différence de structure entre les plaquettes d'origine diverse. Elle est peu probable, il n'y a pas en effet de divergence significative entre les résultats donnés par les auteurs qui ont étudié la structure de ces réseaux cristallins dans des espèces variées d'Anoures ou d'Urodèles (WALLACE, 1963 ; KARASAKI, 1963a ; LANZAVECCHIA, 1965 ; HONJIN et NAKAMURA, 1967). La composition chimique du vitellus semble d'ailleurs la même, tout au moins

dans ses grandes lignes dans toutes ces espèces : deux protéines constituant le réseau, la phosvitine et la lipovitelline (WALLACE, 1963) ; des polysaccharides dans la couche granuleuse externe (RINGLE et GROSS, 1962 ; KARASAKI, 1963a) ; de l'ARN (PANJE et KESSEL, 1968) ; de l'ADN (BALTUS et al, 1968) et divers enzymes en particulier des enzymes hydrolytiques (DENIS, 1961). Ces travaux ne sont cependant pas assez poussés pour savoir s'il y a des différences entre les espèces, ni bien sûr à plus forte raison entre les plaquettes de provenance différente dans une même espèce.

Le vitellus secondaire semble très distinct du vitellus primaire. WITTEK considère que cette phase de vitellogenèse implique l'apport de substances quantitativement et qualitativement différentes. BRACHET (1947) trouve une teneur plus importante en arginine, tyrosine et phospholipides dans les grosses plaquettes. PANIJEL (1950) isolant par centrifugation des petites et des grosses plaquettes met en évidence des différences de composition chimique entre elles. Mais il n'est pas certain que toutes ces petites plaquettes soient du vitellus secondaire. Nos observations montrent que du point de vue morphologique les plaquettes secondaires sont différentes des précédentes, sauf pendant une période transitoire où elles possèdent un réseau identique à celui du vitellus primaire. D'autre part elles sont PAS positives alors que c'est seulement la zone périphérique des plaquette primaires qui présente la même réaction.

A partir de ces observations purement morphologiques, il est difficile de résoudre la question de l'origine endogène ou exogène du vitellus. Les avis sont partagés, tout au moins en ce qui concerne les Amphibiens, alors que dans d'autres animaux, en particulier chez les Insectes, l'origine

exogène du vitellus se confirme (ANDERSON, 1969). Les travaux de WALLACE et al (1969) démontrent (comme l'avait fait FLICKINGER, 1956) l'importance de la synthèse exogène des protéines vitellines chez *Xenopus* ; mais plus récemment WALLACE et JARED (1969) envisagent l'existence de synthèse intraovocytaire chez les Amphibiens ; PANJE et KESSEL (1968) avancent la même hypothèse au moins pour une partie des substances mises en réserve chez *Necturus*. Les mitochondries sont capables de synthèse protéique mais uniquement pour leurs propres constituants (BERGERON et DROZ, 1969). L'appareil de Golgi n'est pas capable de synthèse protéique, il est un appareil de stockage (THIERY, 1969). Pour le réticulum la même remarque est à faire et *a fortiori* pour les vésicules de pinocytose. Nous devons donc admettre que le vitellus primaire est synthétisé hors de l'ovocyte ; cela se comprend pour la seconde moitié de l'ovogenèse pendant laquelle l'activité pinocytotique est très intense, mais non pas pour la première moitié pendant laquelle il y a peu de pinocytose. Pour ce qui est du vitellus secondaire sa localisation périnucléaire, la basophilie de ses zones de formation et la présence de nombreux ribosomes autour des jeunes plaquettes suggèrent plutôt une synthèse *in situ*. Il n'est donc pas impossible que l'origine des protéines vitellines de ces ovocytes soit mixte, à la fois endogène et exogène.

CONCLUSION

Dans l'ovocyte de *Triturus helveticus* le vitellus primaire se forme selon une direction centripète d'abord à partir de mitochondries, à partir de dictyosomes et selon un processus plus complexe associant mitochondries, Golgi et cytoplasme fondamental, puis dans la deuxième moitié de l'ovogenèse à partir de vésicules de pinocytose. Le vitellus secondaire est

stocké dans des vésicules de réticulum endoplasmique. Celui-ci intervient en plus lors de l'accroissement de taille des plaquettes de vitellus primaire. Il ne semble pas y avoir de différences morphologiques entre les plaquettes primaires de provenance diverse, mais entre celles-ci et les grains de vitellus secondaires.

Il est possible que l'origine des protéines vitellines soit mixte, endogène pour le vitellus secondaire et exogène pour la plus grande partie du vitellus primaire.

LES ENVELOPPES DE L'OVOCYTE

Dans ce chapitre nous groupons un certain nombre de structures distinctes, d'une part la membrane elle-même de l'ovocyte et ses différenciations, d'autre part les couches cellulaires entourant l'ovocyte et enfin la zone comprise entre ces deux formations.

Les nombreuses études de microscopie optique ont amené depuis longtemps à la conception d'enveloppes de l'ovocyte ou de l'oeuf d'Amphibien (CRAMER, 1848 ; THOMSON, 1859 ; WALDEYER, 1870 ; KORSCHOLT et HEIDER, 1902 ; WALDEYER, 1906 ; KING, 1908 ; RETZIUS, 1889 ; FISCHER, 1932 ; KEMP, 1953 ; GABAIEVA, 1963). C'est à la suite des observations faites au microscope électronique que l'on connaît mieux le détail de la structure de ces enveloppes. (DOLLANDER, 1954, 1956 ; KEMP 1956b; WARTENBERG et SCHMIDT, 1961 ; WARTENBERG, 1962 ; WISCHNITZER, 1963b, 1964b; HOPE, HUMPHRIES et BOURNE, 1963 ; TOKIN et GABAIEVA, 1963). Bien entendu de nombreuses études analogues ont été effectuées dans des espèces très diverses de Vertébrés et d'Invertébrés et ont conduit à des observations plus ou moins comparables.

Ce sont précisément ces études et le manque de coordination entre elles qui ont conduit à la confusion actuelle. Des termes différents ont en effet souvent été utilisés pour désigner chez des groupes d'animaux divers la même enveloppe ou, en tout cas, des enveloppes analogues. Ce terme lui-même d'enveloppe est mauvais puisqu'il désigne des structures aussi différentes que membrane plasmique, couche cellulaire et couche acellulaire. Dans cet exposé nous utiliserons les termes retenus par WARTENBERG (1962) et WISCHNITZER (1964, 1966).

Ces couches cellulaires sont de l'extérieur vers l'intérieur : un épithélium de surface, une thèque et l'épithélium folliculaire. Entre la membrane plasmique de l'ovocyte et les cellules folliculeuses, il existe une couche acellulaire à laquelle on a donné divers noms : zone pellucide, *zona radiata*, membrane pellucide. Le terme de *zona radiata* est le plus souvent retenu ; cette couche est composée de deux parties, interne et externe (WARTENBERG). Pour WISCHNITZER c'est la seule zone interne qu'il faut nommer *zona radiata*, la zone externe étant désignée par le terme "homogenous layer". Nous nous rallions, pour diverses raisons que justifient nos observations, à l'opinion de WARTENBERG. Les termes de chorion et de membrane vitelline ne peuvent pas s'appliquer à l'ovocyte, nous ne les utiliserons donc pas.

L'ultrastructure de ces diverses couches a été décrite chez quelques espèces d'Amphibiens : *Triturus* (DOLLANDER, 1954, 1956), *Triturus alpestris* et *Ambystoma mexicanum* (WARTENBERG, 1962), *Triturus viridescens* (WISCHNITZER, 1964b, HOPE et al. 1963), *Rana pipiens* (KEMP, 1956b), *Xenopus laevis*, *Rana esculenta* et *Rana temporaria* (WARTENBERG, 1962). Chez *Triturus helveticus* nous avons retrouvé pratiquement la même ultrastructure en la précisant sur certains points.

OBSERVATIONS

LA ZONA RADIATA

La *zona radiata*, située entre l'épithélium folliculaire et la surface de l'ovocyte, est constituée de substance amorphe traversée par deux systèmes de microvillosités, émises d'une part par les cellules folliculeuses et d'autre part par l'ovocyte ; on distingue nettement à faible grossissement les deux couches, interne et externe, différant par

leur densité (Pl. XVI, fig 1). La largeur de la *zona radiata* est variable : de $0,1 \mu$ au début de sa formation à 4μ environ en fin d'ovogenèse.

Les microvillosités de l'ovocyte sont nombreuses, séparées par de courtes distances ($1000 \text{ \AA}$), elles sont courtes (2μ) et rectilignes, leur diamètre ne dépassant pas $800 \text{ \AA}$; elles n'atteignent pas les cellules folliculeuses, puisqu'elles traversent seulement les deux tiers internes de la *zona radiata*, c'est-à-dire exactement sa couche interne (Pl. XVI, fig 1 et 2). Les microvillosités des cellules folliculeuses sont beaucoup moins nombreuses, elles sont séparées les unes des autres par des distances de 1μ , elles sont plus longues (4μ) et plus larges ($2000 \text{ \AA}$) que les précédentes. Sur coupe transversale on peut apprécier plus facilement leur répartition : 300 petites microvillosités par $10 \mu^2$ et 10 grosses microvillosités par $10 \mu^2$; souvent à ces dernières est accolée une petite microvillosité (Pl. XVII, fig 1).

Celles des cellules folliculeuses traversent toute la largeur de la *zona radiata* (Pl. XVI, fig 1). Leurs extrémités s'enfoncent dans de petites cryptes (Pl. XVI, fig 3). Leur membrane et celle de l'ovocyte sont alors reliées par des desmosomes plus ou moins caractéristiques (Pl. XVI, fig 3 et Pl. XVII, fig 4). En dehors de ces cryptes, la membrane plasmique de l'ovocyte est régulière entre les microvillosités, mise à part la présence de quelques vésicules de pinocytose (Pl. XVI, fig 2) ; en fin d'ovogenèse celles-ci sont au contraire extrêmement abondantes (Pl. XVI, fig 4).

Ces deux types de microvillosités ont la même structure que l'on observe particulièrement bien sur coupe transversale : membrane simple dont les deux feuillets ont toujours la même épaisseur, le feuillet externe étant hérissé

de nombreuses petites barbules (Pl. XVII, fig 2 et 3). Elles contiennent en outre une sorte de squelette interne, constitué de microfilaments disposés sans ordre, au nombre d'une dizaine dans les petites microvillosités et d'une quarantaine dans les grosses (Pl. XVII, fig 2 et 3). Sans les coupes transversales les plus favorables on constate qu'il s'agit en réalité de microtubules de 50 Å de diamètre. Ils parcourent les microvillosités sur toute la longueur et se prolongent dans le cytoplasme sous-jacent par des racines de microfilaments de 2 à 3 μ de long (Pl. XVI, fig 2 et 3) ; dans les cellules folliculeuses ces racines sont moins distinctes que dans l'ovocyte.

Les desmosomes reliant les microvillosités des cellules folliculeuses à l'ovocyte sont d'un type particulier. La plaque adjacente à la membrane est mince et le système de tonofilaments que l'on trouve souvent associé aux desmosomes est très pauvre, sinon inexistant, surtout du côté de l'ovocyte (Pl. XVII, fig 4). Leur particularité importante est la présence entre les deux membranes de "ponts" constitués par leurs deux feuilletts externes, ils sont rarement complets par suite de l'incidence de la coupe (Pl. XVII, fig 5).

La substance amorphe de la *zona radiata* est constituée de deux couches distinctes, l'une interne plus claire occupant les deux tiers de la largeur totale et l'autre externe plus dense. La première contient les microvillosités de l'ovocyte qui ne dépassent pas sa limite supérieure. Elles ont toutes deux la même constitution, elles sont formées d'un enchevêtrement de fibrilles très minces (20 Å) (Pl. XVI fig 2 et Pl. XVII, fig 2, 3 et 4); c'est la densité plus ou moins grande de cet enchevêtrement qui est responsable de la différence d'opacité aux électrons des deux couches. Sur une faible épaisseur autour des microvillosités ces fibrilles sont beaucoup moins étroitement associées (Pl. XVI, fig 2) ;

cet espace clair est particulièrement apparent en coupe transversale, constituant une auréole, traversée seulement par quelques rayons de substance fibrillaire (Pl. XVII, fig 2).

La *zona radiata* n'existe pas pendant toute l'ovogénèse, cette substance fondamentale et les microvillosités qui la traversent n'apparaissent que lorsque commence la vitellogenèse. La périphérie des jeunes ovocytes est lisse et régulière, ainsi que la membrane des cellules folliculeuses, tandis que l'espace compris entre ces deux cellules est très mince (200 Å) et vide. Les microvillosités de l'ovocyte apparaissent les premières, elles sont fines et couchées sur la surface de l'ovocyte (Pl. XVIII, fig 1); au début, elles ne contiennent pas de microfilaments.

De place en place, alors que l'espace intercellulaire s'aggrandit les cellules folliculeuses restent au contact de l'ovocyte par d'épais prolongements, et des densifications apparaissent au niveau de ces zones d'adhérence (Pl. XVIII, fig 1 et 2). A mesure que l'espace intercellulaire s'aggrandit, ces zones prennent l'aspect des desmosomes caractéristiques que nous avons décrits, et les prolongements épais deviennent alors les microvillosités des cellules folliculeuses. Pendant ce temps, cet espace se remplit progressivement de substance fibrillaire qui apparaît d'abord sous forme floconneuse, sans qu'il soit possible de dire si c'est du côté de l'ovocyte ou du côté des cellules folliculeuses qu'elle apparaît d'abord (Pl. XVIII, fig 1 et 2).

LES COUCHES CELLULAIRES

Elles sont au nombre de trois : de l'intérieur vers l'extérieur, les cellules folliculeuses, la thèque et l'épi-

thélium de surface (voir Pl. XVI, fig 1). Au cours de l'ovogenèse, elles présentent une évolution que nous n'avons pas étudiée spécialement, nous limitant à l'étude de leur structure dans le cas des ovocytes vitellins, structure à peu près constante pendant toute la vitellogenèse. Retenons seulement qu'avant ce stade les deux couches internes sont plus minces et que les cellules folliculeuses sont dépourvues de microvillosités.

LES CELLULES FOLLICULEUSES

Elles constituent autour de l'ovocyte un revêtement épithélial pavimenteux et unistratifié. Elles sont de forme arrondie en coupe tangentielle. En coupe transversale, elles sont minces ($1,5 \mu$), de surface régulière du côté de la thèque et hérissées de quelques microvillosités vers l'ovocyte (Pl. XVIII, fig 3). Elles possèdent un noyau de même forme que la cellule, renfermant un ou deux nucléoles et de gros amas de chromatine dense (Pl. XVIII, fig 3 et Pl. XIX, fig 4). Le cytoplasme contient des éléments habituels ; l'ergastoplasme est peu représenté, mais il peut y avoir beaucoup de réticulum lisse sous forme de vésicules et les ribosomes sont libres et diffus (Pl. XVIII, fig 3 et Pl. XIX, fig 2). Les mitochondries ont une matrix dense et des crêtes peu nombreuses. Les dictyosomes sont toujours nombreux et quelquefois même très abondants (Pl. XIX, fig 2). On trouve quelquefois un diplosome (Pl. XVIII, fig 4) et aussi des cils très rares présentant une structure atypique (7 paires de tubules périphériques incomplets et 2 paires centrales) (Pl. XVIII, fig 3). Ce qui caractérise surtout ces cellules c'est la présence constante de microfilaments ; certaines cellules en contiennent une telle abondance qu'elles évoquent l'aspect de cellules musculaires lisses (Pl. XIX, fig 1). Un point important est la présence dans presque toutes les cellules d'inclusions denses dont les

dimensions sont de l'ordre de $0,15 \mu$ (Pl. XVIII, fig 3 et Pl. XIX, fig 2 et 3) à l'intérieur desquelles on ne distingue pas de texture particulière. Il peut arriver aussi que du côté de l'ovocyte la cellule folliculeuse présente une ou plusieurs vastes échancrures remplies d'une substance fibreuse identique à celle de la *zona radiata*, quoique beaucoup moins dense (ceci dans les ovocytes en début de vitellogenèse) (Pl. XIX, fig 4). Toutes ces cellules folliculeuses sont reliées les unes aux autres par des desmosomes identiques à ceux que nous avons décrits plus haut (Pl. XX, fig 1). Il arrive dans certains gros ovocytes que ces cellules ne soient plus reliées de la sorte, en même temps que leur forme devient moins allongée et que leurs microvillosités disparaissent (Pl. XX, fig 2).

LA THEQUE

C'est en réalité une couche de tissu conjonctif typique de $0,5$ à 2μ de large environ, limitée de part et d'autre par une fine membrane basale sur laquelle reposent les épithéliums folliculaire et de surface (Pl. XX, fig 1 et 5). Elle contient des fibres de collagène en abondance (Pl. XX, fig 3) et peu de cellules. Celles-ci ont tout l'aspect de fibroblastes très allongés, mais elles contiennent elles aussi des inclusions denses, identiques à celles des cellules folliculeuses (Pl. XX, fig 4). On y trouve en outre de nombreux capillaires.

L'EPITHELIUM DE SURFACE

Il constitue une couche mince ($0,5 \mu$) de cellules très longues et très aplaties, sauf au niveau des noyaux, reposant sur la membrane basale externe de la thèque (Pl. XX fig 5). Leur ultrastructure ne montre rien de particulier,

sauf l'extrême abondance de vésicules de pinocytose sur les deux faces de ces cellules.

DISCUSSION

Il n'y a pas de différences essentielles entre ces structures et celles qui sont décrites chez les autres Amphibiens, ou même dans les autres groupes d'animaux, Invertébrés ou Vertébrés inférieurs ; la *zona radiata* présente en effet dans l'ensemble du règne animal une remarquable homogénéité, ce qui n'est pas tout à fait le cas pour les couches cellulaires différenciées en thèques interne et externe et en follicule de plus en plus complexe.

Le cytoplasme cortical de l'ovocyte de *Triturus helveticus* ne contient pas de granules corticaux, pourtant si fréquents dans des espèces très variées (voir RUNNSTROM 1966) et constants chez les Amphibiens Anoures (KEMP, 1953, 1956b; WARTENBERG, 1962 ; BALINSKY et DEVIS, 1963 ; WARD et WARD, 1968). Et l'on ne trouve pas d'organites équivalents ou analogues dans les ovocytes d'Urodèles.

Tous les auteurs cités plus haut ont observé dans la *zona radiata* de l'ovocyte d'Amphibien le même système de microvillosités. Ces différenciations du cortex ovocytaire sont constantes dans toute la série animale : Mammifères (HADEK, 1965), Oiseaux (BELLAIRES, 1965), Reptiles (PORTE et ZANHD, 1962), Poissons (GOTTING, 1965), Cyclostomes (BUSSON-MABILLOT 1967), Tuniciers (KESSEL et KEMP, 1962), Echinodermes (AFZELIUS, 1956), Arthropodes (KESSEL et BEAMS, 1963), Mollusques (REBHUN, 1962), Vers (DHAINAULT, 1968). Elles sont d'autant plus développées que l'ovocyte accumule des réserves (de 300 Å de long chez les Mollusque à 4000 Å chez les Téléostéens), c'est à dire leur rôle dans l'absorption par l'ovocyte de substances nécessaires à la synthèse du vitellus (DICK et DICK 1970).

Cette différenciation est d'ailleurs caractéristique des cellules absorbantes, dont les plus typiques sont celles de l'épithélium de la muqueuse intestinale (ITO, 1964). Comme dans ces cellules, nous avons observé ici un squelette interne dans les microvillosités, constitué de microtubules, structure qui n'a jamais été décrite dans la *zona radiata* d'ovocytes, alors que nous l'avons observée aussi dans des espèces voisines (*Triturus marmoratus*, *Hyla arborea*, *Rana temporaria*). Si l'on peut supposer que ces microtubules servent à assurer la rigidité des microvillosités, on ignore la signification des barbules qui hérissent leur surface. Les microvillosités des cellules folliculeuses, identiques à celles des autres espèces d'Amphibiens, ne sont pas constantes dans d'autres groupes d'animaux ; elles sont quelquefois remplacées par des expansions plus ou moins allongées à allure de pseudopodes, comme chez la Lamproie (BUSSON-MABILLLOT 1967). Elles sont toujours reliées à l'ovocyte par des appareils de fixation apparentés aux desmosomes. Ces deux types de microvillosités, émises par l'ovocyte ou par les cellules folliculeuses, n'ont pas la même fonction ; alors que les premières ont une fonction d'absorption, les autres seraient des sortes de villosités crampons, assurant la cohésion entre l'ovocyte et le follicule.

L'apparition des microvillosités semble assez particulière. Celles de la cellule folliculeuse se forment par une sorte d'étirement de l'espace intercellulaire. Celles de l'ovocyte apparaissent d'abord couchées sur l'ovocyte, comme si la membrane plasmique présentait des invaginations étroites et profondes très inclinées, délimitant les microvillosités, qui se relèveront ensuite. Pour KEMP, WARTENBERG et WISCHNITZER les microvillosités apparaissent, chez les Amphibiens, d'emblée perpendiculaires au cortex, mais de petite taille ; chez *Triturus helveticus* il est cependant net que les microvillosités ont d'emblée leur taille définitive, ne

se relevant qu'en acquérant des microtubules internes ; ce mode de formation des microvillosités est tout à fait semblable à celui qu'observe BUSSON-MABILLOT chez la Lamproie (1967).

Les desmosomes qui relient les cellules folliculeuses à l'ovocyte sont d'un type particulier. Outre leur pauvreté en tonofilaments, qui a été reconnue par tous les auteurs, que ce soit chez les Amphibiens ou ailleurs, ils possèdent des "ponts", constitués des feuilletts externes des membranes cellulaires. Cette différenciation est rare, elle a été reconnue en particulier dans l'épiderme du Triton (KELLY, 1966) et dans la glande interstitielle du testicule des Pleurodèles (PICHERAL, 1968) ; elle n'est pas sans rappeler l'aspect des desmosomes septaux dont la caractéristique, quelle que soit la variante de ces desmosomes examinés, est de posséder dans l'espace intercellulaire des expansions des membranes plasmiques (GOURANTON, 1967), et qui représentent la forme la plus complexe des desmosomes. Au cours de la formation de la *zona radiata* il semble bien d'ailleurs que le point d'attache des cellules folliculeuses soit d'abord une *zonula adherens*, puis une *macula adherens* ou desmosome classique et enfin ce desmosome plus complexe qu'on peut apparenter à un desmosome septal.

La substance fondamentale de la *zona radiata* est, elle aussi, constante et, le plus souvent, on a distingué deux couches dans son épaisseur. Alors que, quelquefois ces deux couches sont de structure différente (HOPE, 1965), chez les Amphibiens on n'a toujours décrit que des différences de densité d'une même organisation ultrastructurale, mais on y a vu le plus souvent des grains et non pas des fibrilles (WARTENBERG) ; il semble que ces différences soient dues à la fixation. Cette substance fondamentale est de nature polysaccharidique aussi bien chez les Amphibiens (WARTENBERG, 1956 ; ROSENBAUM, 1958) que chez les autres

groupes, avec souvent une différence entre les deux couches. On peut donc faire une distinction dans la nomenclature entre ces deux couches, mais les deux sont traversées par les microvillosités et le terme de *zona radiata* ne peut s'appliquer qu'à l'ensemble et non pas à l'une seulement des deux couches.

Le problème de son origine est extrêmement complexe. Chez les Amphibiens, les anciens auteurs avaient émis des opinions divergentes ; pour WALDEYER (1870), IWAKAWA (1882), SCHULTZ (1887), elle est formée par l'ovocyte ; pour KING (1908) elle est sécrétée par les cellules folliculeuses ; on pense le plus souvent maintenant (WISCHNITZER, 1963^a, 1964^b) que les deux cellules participent à la formation de cette couche acellulaire. On retrouve le même antagonisme de façon générale dans les autres groupes d'animaux, avec les tenants d'une origine ovocytaire (MULLER et STERBA, 1963 pour les Téléostéens), les tenants d'une origine folliculaire (ODOR, 1960, chez le Rat ; TRUJILLO-CENOZ, 1959, chez le Lapin ; STAHL et LERAY, 1961, chez les Téléostéens). Certains auteurs admettent une origine extra-ovarienne et une transudation entre les cellules folliculeuses (BRACHET, 1960). Pour CHIQUOINE (1960), FRANCHI (1960), HADEK (1965), il y aurait participation des deux types de cellules, donc origine mixte de cette substance. Dans le cas de *Triturus helveticus*, l'abondance de dictyosomes dans les cellules folliculeuses signe une activité de synthèse de polysaccharides (THIERRY, 1969) ; il en existe également un nombre important dans le cortex de l'ovocyte, mais ils sont plus orientés vers une activité vitello-gène. La présence d'échancrures à cortex fibreux à la face ovocytaire des cellules folliculeuses est un argument de plus en faveur de l'activité de ces cellules lors de la formation de la *zona radiata*. De plus, il peut paraître incompatible pour une même cellule de se différencier à la fois dans le

sens d'une absorption (formation de microvillosités sur le cortex ovocytaire) et dans le sens d'une sécrétion (la *zona radiata* se forme en effet au même moment). Comme il y a cependant une différence biochimique entre les deux couches, il est possible que l'ovocyte intervienne dans la modification de cette substance sécrétée par le follicule, c'est ce que suggèrent CHIQUOINE (1960) et WARTENBERG et STEGNER (1962) pour l'ovocyte de Mammifère.

Les cellules folliculeuses sont peu connues en dehors de leur activité éventuelle dans la formation de la *zona radiata* ; elles pourraient être le siège d'une sécrétion endocrine, attestée par la présence de nombreux grains denses dans leur cytoplasme, tout à fait identiques à des grains de sécrétion. Il peut s'agir là de la sécrétion d'hormones stéroïdes démontrée par MASUI (1967). Cependant l'ultrastructure de ces cellules n'est pas spécialement caractéristique des tissus stéroïdogènes : la présence de desmosomes n'est pas un argument contre, on les trouve dans de tels tissus (IDELMAN, 1966 ; PICHERAL, 1968) ; mais ni les mitochondries (IDELMAN, 1966), ni le réticulum (CHRISTENSEN, 1965) ne sont caractéristiques ; on a trouvé, par contre, des cils atypiques dans de telles cellules à plusieurs reprises (CURRIE et WHEATLEY, 1966). Les mêmes remarques sont à faire pour les cellules de la thèque (voir Introduction). Par ailleurs il est difficile de savoir si les cellules à nombreux microfilaments sont des cellules musculaires lisses auxquelles on a fait jouer un rôle dans l'ovulation (RUGH, 1935). A ce moment, en tout cas, il y a rupture des desmosomes qui relie les cellules folliculeuses entre elles, retrait des microvillosités et changement de leur forme (plus cuboïdales) ; c'est du moins de cette façon que nous interprétons les images telles que celle de la Pl. XX, Fig. 1, que nous

trouvons seulement dans les ovocytes en fin de maturation, ce qui correspond en partie aux observations de WARTENBERG (1962).

CONCLUSION

L'ovocyte de *Triturus helveticus* est entouré par une couche acellulaire ou *zona radiata*, constituée d'un matériel fibreux polysaccharidique dans lequel baignent des microvillosités émises par l'ovocyte et par les cellules folliculeuses.

Toutes ces microvillosités possèdent un squelette interne de microtubules ; celles de cellules folliculeuses sont reliées à l'ovocyte par des desmosomes présentant des ponts membranaires intercellulaires. Au cours de la formation de la *zona radiata* les microvillosités de l'ovocyte apparaissent d'abord inclinées sur le cortex ; les microvillosités des cellules folliculeuses se forment par étirement ; les desmosomes passent par des stades de plus en plus complexes avant d'avoir leur structure définitive. Il semble que la *zona radiata* soit formée à la fois par les cellules folliculeuses et l'ovocyte. Trois couches cellulaires entourent à l'extérieur l'ovocyte, l'épithélium folliculaire, qui peut avoir un rôle de sécrétion, la thèque, qui peut avoir un rôle identique et l'épithélium de surface.

ORGANITES ENIGMATIQUES

LYSOSOMES

Dans les ovocytes en début de vitellogenèse on observe de très nombreux organites de petite taille ($0,5 \mu$) constitués d'une membrane simple et d'un contenu clair, sauf en leur centre souvent formé de granules denses juxtaposés (Pl. XXI, fig 1). Ces formations ressemblent beaucoup à celles que WARTENBERG décrit comme étant des émissions nucléaires (chromidies), mais nous n'avons pas vérifié de relations entre elles et le noyau. Elles peuvent changer de forme, en prenant un aspect en croissant (Pl. XXI, fig 2), leur contenu peut alors devenir homogène (Pl. XXI, fig 3). Très souvent il y a juxtaposition de ces organites avec des figures myéliniques ou du cytoplasme clair et vacuolisé (Pl. XXI, fig 3 4 et 5). Le fait que de telles images soient plus abondantes dans les ovocytes atrétiques nous conduit à penser qu'il peut s'agir de lysosomes ; ce qui ne peut être confirmé que par l'étude de l'équipement enzymatique de ces organites.

STRUCTURES TUBULAIRES OU GRANULAIRES PERIODIQUES

Par ailleurs, mais rarement et seulement dans les ovocytes dépourvus de vitellus, l'on rencontre un organite très différent et très structuré, qui se présente selon divers aspects en fonction de l'incidence de la coupe. En coupe transversale, il se présente sous forme d'éléments juxtaposés, constitués chacun de deux ou trois "accents circonflexes" très denses aux électrons (Pl. XXII, fig 1). En cou-

pe longitudinale c'est un faisceau de tubules denses de 2 μ de long torsadés (Pl. XXII, fig 2) ; et en coupe intermédiaire, on observe des fragments de ces torsades (Pl. XXII, fig 3).

D'une autre nature semble être l'organite suivant qui se présente sous forme de longues trainées finement striées, de 5 à 6 μ de long sur 0,5 μ de large, séparées par des rangées doubles ou triples d'amas granuleux régulièrement organisés. Il semble que ces deux zones soient des coupes perpendiculaires l'une par rapport à l'autre du même élément (Pl. XXII, fig 4 et 5).

Si dans le premier cas il semble que ce soit des alignements de tubules spéciaux, beaucoup plus denses que ceux que l'on observe couramment dans ces ovocytes (Pl. VI, fig 1) , dans le deuxième cas il pourrait s'agir d'un agencement particulier de ribosomes, comme on peut le voir sur certaines coupes favorables (Pl. XXII, fig 6). De toute façon, l'on ignore tout de la signification de ces organites, qui n'ont pas d'équivalent dans les ovocytes décrits jusqu'à maintenant et que nous n'avons pas retrouvés chez les espèces voisines que nous avons examinées.

L ' A T R E S I E

O V O C Y T A I R E

INTRODUCTION

Chez les Vertébrés supérieurs, en particulier chez les Mammifères, l'atrésie ovocytaire est un phénomène relativement bien connu et étudié, tant au point de vue physiologique que du point de vue morphologique (INGRAM, 1962). Chez les Vertébrés inférieurs, et spécialement chez les Amphibiens, cette involution de l'ovocyte a été peu étudiée. Les corps atrétiques ont été signalés par de très nombreux auteurs, mais ils ont rarement été décrits en détail.

Les premières descriptions ont été faites chez le Triton en 1901 par STIEVE, puis par BULHER (1903), PEREZ (1903) et DUBUISSON (1903). Pour tous ces auteurs il y a dégénérescence des ovocytes vitellins seulement, à la suite d'une agression par les cellules folliculeuses qui les phagocytent complètement, aidées par des cellules venues de l'extérieur (macrophages, polynucléaires) ; il en résulte un massif conjonctif qui dégénère à son tour. Certains de ces auteurs ont décrit des processus atrétiques différents, selon la taille des ovocytes atteints. D'autres descriptions ont été faites ultérieurement, elles sont le plus souvent incomplètes ou très courtes, car elles ont été faites à l'occasion d'expérimentations destinées avant tout à la compréhension de la physiologie de la reproduction chez les Amphibiens ; elles n'ont donc rien apporté de plus par rapport à ces observations anciennes que nous avons citées. Avant de faire le bilan de ces travaux pour tenter de préciser le déterminisme de l'atrésie ovocytaire, il est indispensable de connaître exactement les conditions dans lesquelles apparaît cette atrésie.

CONDITIONS D'APPARITION DE L'ATRESIE OVOCYTAIRE

Nous avons pendant une année complète sacrifié chaque mois une dizaine de Tritons immédiatement après leur capture. Nous avons retrouvé de la sorte le cycle sexuel tel qu'il est classiquement connu chez les Urodèles. Pendant l'été l'ovaire ne contient que des ovocytes jeunes dépourvus de vitellus, dont la taille ne dépasse pas 250μ . En septembre ces ovocytes, ou en tout cas les plus gros d'entre eux, subissent un accroissement important qui se poursuit jusqu'en Décembre. A ce moment, l'ovaire contient toujours des jeunes ovocytes, mais aussi de plus gros contenant des réserves vitellines, dont la taille atteint presque $1\ 000\mu$. Dans les conditions naturelles, l'ovaire entre alors dans une période de repos relatif, et jusqu'au mois de Mars environ nous n'observons pas de changements importants dans la taille des ovocytes. C'est une phase d'attente qui prend fin au printemps; il y a alors un accroissement de taille des ovocytes et déclenchement de la ponte qui se poursuivra jusqu'en Juin; les jeunes ovocytes augmentent de taille et deviennent plus nombreux par multiplication des ovogonies, pendant ce temps.

L'atrésie atteint l'ovaire seulement pendant cette période de l'année. Au moment où débute la ponte, et peut être même un peu avant, il apparaît des corps atrétiques en petit nombre; il y en a toujours une petite proportion tant que dure la ponte, mais une constante augmentation. A la fin de cette période, le nombre d'ovocytes atrétiques devient plus important, de sorte qu'en Juin tous les ovocytes vitellins sont atteints, et seulement ceux-là. En juillet il ne reste dans l'ovaire que des jeunes ovocytes sans vitellus, tous les autres étant ou pondus ou atrétiques. Il y a évidemment selon les années un léger décalage dans la succession de ces phases, qui est dû aux varia-

tions des conditions climatiques. Ces deux périodes de repos estival et hivernal s'allongent ou se raccourcissent, mais l'aspect et la durée du cycle sont les mêmes.

Les animaux conservés en élevage au laboratoire ont un cycle perturbé. S'ils sont capturés en automne ou en hiver ils commencent à pondre deux ou trois semaines après; les délais sont d'autant plus courts et la ponte d'autant plus abondante et durable que la date de capture est plus proche de la période de ponte normale. D'autre part l'atrésie apparaît dans les ovaires de ces animaux dans les mêmes délais que la ponte, mais le nombre de corps atrétiques n'augmente pas, ni pendant, ni après la ponte. S'ils sont capturés au printemps leurs ovaires sont identiques à ceux des animaux vivant dans la nature avec cependant un surplus en corps atrétiques.

Chez des animaux que nous avons soumis au jeûne total il y a apparition de l'atrésie dans les délais très brefs (une semaine) et en même temps, arrêt complet de la ponte, si celle-ci a lieu au même moment. Cette atrésie devient très importante et débarrasse en cinq ou six semaines l'ovaire de tous les ovocytes vitellins, les autres restant intacts.

SIGNIFICATION DE L'ATRESIE OVOCYTAIRE

Les conditions d'apparition de l'atrésie ovocytaire dans les ovaires d'animaux vivant dans la nature ont conduit certains auteurs à l'associer à la ponte. Ces corps atrétiques ont été nommés quelquefois corps jaunes pré-ovulatoires par opposition aux corps jaunes post-ovulatoires (vrais corps jaunes), et on a supposé qu'ils apparaissaient sous l'action

des hormones gonadotropes au début de la période de ponte et qu'ils fournissaient une sécrétion hormonale responsable du bon fonctionnement de l'oviducte pendant la ponte (BRETSCHNEIDER et de WIT, 1947). La formation des corps atrétiques se produit de la même façon, au même moment du cycle chez les autres Vertébrés inférieurs (Poissons : BRETSCHNEIDER et de WIT, 1947 ; Reptiles : PANIGEL, 1951), alors que chez les Mammifères elle est constante, quelle que soit la période du cycle, avec une fréquence plus ou moins élevée selon l'influence de divers facteurs (BRAMBELL 1956).

D'autres auteurs pensent au contraire que les corps atrétiques sont des résidus de dégénérescence ovocytaire apparus sous l'influence d'une baisse du taux d'hormones gonadotropes (TUCHMANN-DUPLESSIS, 1945 ; SMITH, 1955).

DETERMINISME PHYSIOLOGIQUE DE L'ATRESIE OVOCYTAIRE

On peut considérer, nous l'avons vu, qu'au cycle sexuel se superpose un cycle hypophysaire ; une sécrétion de base d'hormones gonadotropes existe pendant l'été, augmente pendant l'automne, reste à peu près constante en hiver et s'accroît au printemps. Le premier accroissement correspond à la phase finale de la maturation et surtout au dépôt de réserves dans l'ovocyte, et le second est responsable de la ponte. Ceci est extrêmement schématique et en partie erroné, puisqu'il peut s'agir non pas d'un taux global d'hormones gonadotropes mais d'un rapport variable entre FSH et LH.

Chez les animaux conservés au laboratoire pendant l'automne ou l'hiver, la ponte se déclenche prématurément. On peut supposer que l'on a reproduit artificiellement les

conditions climatiques, thermiques en particulier, du printemps. Ces influences sont clairement démontrées chez les Amphibiens (MARCH, 1937) comme chez les Vertébrés supérieurs (AMOROSO et MATTHEWS, 1955). L'atrésie commence là aussi comme dans les conditions naturelles en même temps que la ponte mais elle ne s'accroît ni pendant, ni après cette période, et c'est la différence essentielle avec ce qu'on observe dans la nature. L'atrésie n'est donc pas liée à la ponte, elle serait plutôt due aux conditions d'élevage elles mêmes qui peuvent agir sur la fonction gonadotrope hypophysaire par l'intermédiaire d'un certain nombre de facteurs d'environnement, comme on l'a signalé chez les Vertébrés supérieurs (HEDIGER, 1950) et aussi chez les Amphibiens (SAVAGE, 1935).

Le jeûne entraîne à n'importe quelle période de l'année l'apparition d'une atrésie importante et quelquefois complète, et de plus il inhibe complètement la ponte. Dans ces conditions, atrésie et ponte sont complètement dissociées. Le jeûne, comme la captivité, mais à un degré bien supérieur, est connu pour inhiber la fonction gonadotrope hypophysaire chez les Mammifères (MULINOS et al. 1939) et aussi chez les Amphibiens (PEREZ, 1903 ; ALEXANDER et BELLERBY, 1938). Dans ce cas, l'atrésie et l'arrêt de la ponte ont une même cause, la chute du taux global d'hormones gonadotropes. Chez les Amphibiens, de nombreux auteurs ont décrit l'atrésie provoquée par ces mauvaises conditions de nutrition et d'environnement (HOGBEN et al., 1931 ; SHAPIRO et SHAPIRO, 1934 ; BELLERBY, 1938 ; BELLERBY et HOGBEN, 1938 ; TUCHMANN-DUPLESSIS, 1945 ; PENHOS et CARDEZA, 1952).

L'administration d'oestrogènes entraîne elle aussi l'apparition de corps atrétiques nombreux et une diminution très marquée de la ponte. Ces effets inhibiteurs sont bien connus dans toutes les classes de Vertébrés et en particulier chez les Amphibiens (ADAMS, 1950 ; BURGOS, 1953). Ils sont

peut-être dus à une action directe sur l'ovaire (ce qui expliquerait la formation de corps atrétiques atypiques, observés par ADAMS), ou à l'action inhibitrice en retour des oestrogènes sur la fonction gonadotrope hypophysaire (BURGOS en effet a signalé une atteinte des cellules de l'hypophyse pendant ce traitement, mais avec des doses élevées d'oestrogènes).

L'hypophysectomie pratiquée chez les Amphibiens entraîne l'apparition d'une atrésie massive ; BURNS (1932), BURNS et BUYSE (1932) chez la Salamandre ; TUCHMANN-DUPLESSIS (1945) chez le Triton ; HOGBEN (1930), SHAPIRO et SHAPIRO (1934) chez *Xenopus* ; CHANG et WITSCHI (1955) ; GALLIEN (1939) chez *Rana*.

L'atrésie paraît donc survenir après une chute du taux d'hormones gonadotropes, cela a été abondamment vérifié expérimentalement. Mais comme dans les conditions naturelles la ponte survient en même temps que celle-ci et qu'elle est évidemment due à une augmentation de l'activité gonadotrope, il faut admettre que ce n'est pas la chute globale de ces hormones qui entraîne l'apparition de l'atrésie, mais de l'une d'elles seulement. Comme dans toute l'échelle des Vertébrés il semble que chez les Amphibiens la ponte soit sous le contrôle de LH dont le taux augmenterait à cette époque (WRIGHT et HISAW, 1946). D'autre part il semble que dans l'hypophyse des Amphibiens les cellules à LH soient acidophiles et les cellules à FSH basophiles ; or au moment de la ponte les cellules acidophiles se dégranulent, libérant donc la LH, et les cellules basophiles semblent être au repos (ZAHN, 1935, 1937 ; MILLER et ROBBINS, 1955 ; TUCHMANN-DUPLESSIS, 1945 ; MAZZI et PIERI, 1949). Ce serait donc la diminution de FSH qui provoquerait l'apparition de l'atrésie.

Dans tous les cas elle n'affecte que les ovocytes vitellins. Tous les auteurs l'ont constaté, que ce soit dans les conditions naturelles ou dans n'importe quelles conditions expérimentales, et ont conclu que l'ovocyte passait par un stade de développement indépendant du contrôle hormonal qui se termine avec le début de la vitellogenèse ; ce qui est confirmé par le fait que l'hypophysectomie pratiquée chez les animaux immatures n'empêche pas le développement des ovocytes jusqu'à ce stade (CHANG et WITSCHI, 1955).

CONCLUSION

Etant donné les circonstances d'apparition des corps atrétiques il est difficile de leur attribuer une fonction sécrétoire endocrine. Il semble qu'on les ait confondus avec les corps jaunes qui apparaissent eux aussi au moment de la ponte et qui sont macroscopiquement difficiles à distinguer des corps atrétiques. Il est possible que ces corps jaunes aient une fonction endocrine (HETT, 1923 ; KESSEL et PANJE, 1968). Mais les corps atrétiques semblent plutôt être des produits de dégénérescence uniquement provoquée vraisemblablement par la chute du taux de FSH.

Au cours de cette étude nous tenterons de reconnaître la séquence des modifications cytologiques qui amènent l'ovocyte au stade de corps atrétique, portant surtout notre intérêt sur le passage critique de la cellule normale en plein fonctionnement à la cellule commençant à dégénérer. La connaissance du métabolisme atteint le pre-

mier peut ainsi nous renseigner sur la nature du contrôle hormonal (mode d'action de la FSH) exercé par l'hypophyse sur l'ovogenèse.

Cette étude comprend deux parties :

- l'étude de l'atrésie au microscope optique.

- l'étude de l'atrésie au microscope électronique qui doivent nous permettre de donner un schéma général de cette involution de l'ovocyte, de préciser l'action des hormones gonadotropes au niveau cellulaire (follicule et ovocyte), et d'apporter une contribution à la connaissance de la dégénérescence cellulaire en général.

L'OVOCYTE ATRETIQUE AU MICROSCOPE OPTIQUE

OBSERVATIONS

Avant l'examen au microscope optique on peut reconnaître aisément sous la loupe les ovocytes atrétiques. Les premiers signes de dégénérescence consistent en des modifications de la forme et de la pigmentation des ovocytes. Ceux-ci ont un aspect flétri et contiennent du pigment brun en abondance ; leur vascularisation est beaucoup plus importante que celle des ovocytes normaux. Les corps atrétiques sont des formations brunâtres, de petite taille, souvent ovales ou allongées, qu'on peut quelquefois confondre avec les corps jaunes, qui ont la même forme et souvent les mêmes dimensions, mais qui sont cependant d'une teinte plus claire.

On pouvait dès le départ soupçonner plusieurs processus de régression différant selon la taille des ovocytes. Mais seuls les ovocytes vitellins dégénèrent (sauf une restriction peu importante), et, en réalité, ils subissent tous la même évolution au cours de cette atrésie.

LE FOLLICULE ET LE CORTEX

Les premiers signes d'atrésie apparaissent au niveau des cellules folliculeuses. Celles-ci, normalement très aplaties, deviennent cuboïdales et prolifèrent ou, en tout cas, migrent dans la direction de l'ovocyte. Elles pénètrent dans l'ovocyte d'abord en déformant la *zona radiata*, puis, celle-ci disparaissant, elles atteignent l'intérieur même du cyto-

plasme (Pl. XXIII, fig 1). Elles finissent par constituer deux ou trois couches plus ou moins régulières (Pl. XXIII, fig2), dans lesquelles on ne remarque que de rares mitoses. Ces modifications n'apparaissent pas simultanément sur tout le pourtour de l'ovocyte, mais semblent se développer à partir d'un ou plusieurs points. On peut observer au lieu de ces couches, la pénétration d'une travée cellulaire ou de cellules isolées s'enfonçant seules dans le cytoplasme.

Il apparaît quelquefois une ligne de vésicules tout à fait à la périphérie, empiétant par endroits sur la *zona radiata* (Pl. XXIII, fig 3) ; ces vésicules ne sont pas constantes et elles apparaissent aussi sur des ovocytes ne présentant aucun autre signe de dégénérescence. Elles peuvent donc en représenter un signe très précoce, s'il ne s'agit pas d'un artéfact (bien qu'elles apparaissent avec n'importe quel fixateur).

La *zona radiata* disparaît au moment où les cellules folliculeuses commencent à envahir l'ovocyte. Elle est souvent remplacée par un méat ou par une ligne de grains, présentant une réaction positive avec le PAS et négative avec les colorants métachromatiques. Ces mêmes grains se rencontrent aussi dans les cellules folliculeuses (Pl. XXIII, fig 4 et 5).

LE CYTOPLASME ET LE NOYAU

L'ovocyte se charge de pigments bruns en quantité plus importante que normalement, de façon irrégulière, à partir de la périphérie, et d'autant plus qu'il a atteint une taille importante. Ce sont des pigments mélaniques exclusivement (décoloration par H_2O_2 et par MnO_4K , réaction ar-

gentaffine positive, tests des chromolipoïdes et des caroténoïdes négatifs). Souvent un hémisphère est plus pigmenté que l'autre.

Le cytoplasme dans son ensemble devient hétérogène; quelle que soit la coloration utilisée, elle ne prend que de façon anarchique (Pl. XXIII, fig 5). Souvent certaines zones semblent même se désagréger. Il peut apparaître aussi dans le cytoplasme périnucléaire une vacuolisation identique à celle qui existe dans le cortex.

Le noyau de ces ovocytes est très mal conservé par la fixation et donc souvent très endommagé par la coupe, ce qui atteste une altération profonde de ses éléments. Il est alors fréquemment excentrique et son contenu est anormalement granuleux : il n'est pas possible d'y distinguer de chromosomes (Pl. XXIII, fig 5). Les nucléoles peuvent avoir une position centrale ou périphérique ; certains se colorent de façon anormale, montrant plusieurs parties juxtaposées, et ils ont perdu leur forme arrondie ou ovale pour devenir quelquefois allongés et flexueux (Pl. XXIII, fig 6). La durée de vie du noyau doit être très brève puisque, dès que les cellules folliculeuses sont sur quatre ou cinq couches, on ne l'observe plus.

LE CORPS ATRETIQUE

Les cellules folliculeuses devenues phagocytaires envahissent complètement l'ovocyte. Les granules PAS positifs disparaissent et font place à du pigment mélanique (Pl. XXIV, fig 1) ; celui-ci est très inconstant, certaines cellules en contiennent beaucoup et d'autres très peu ; il semble que ce soit en relation avec la taille de l'ovocyte et donc la quantité du vitellus. Si l'ovocyte est de taille

moyenne les cellules phagocytaires restent jointives et forment de nombreuses couches qui en atteignent le centre (Pl. XXIV, fig 2) ; s'il est de grande taille, seules les cellules des trois ou quatre couches périphériques restent jointives, les autres migrent isolément dans le cytoplasme (Pl. XXIV, fig. 3).

Etant donné le petit nombre de mitoses observées, on doit admettre que d'autres cellules sont venues de l'extérieur pour contribuer à la phagocytose de l'ovocyte, bien que le corps atrétique ait une taille inférieure à celle de l'ovocyte dont il provient et que les cellules phagocytaires soient plus volumineuses que les cellules folliculeuses. On observe d'ailleurs de nombreux polynucléaires entre les cellules et surtout au centre du corps atrétique (Pl. XXIV, fig 4).

Le vitellus est absorbé par les cellules phagocytaires, il y subsiste plus ou moins longtemps et est remplacé par du pigment et des vacuoles lipidiques. Les plaquettes vitellines se colorent de façon tout à fait anormale. Certains colorants, qui mettent en évidence la seule zone périphérique (PAS, Bleu de Toluidine), imprègnent alors soit l'ensemble de la plaquette vitelline, soit seulement une ou deux stries longitudinales, ou bien encore de nombreux points disposés sur toute la plaquette (Pl. XXIV, fig 5). Certains grains de vitellus sont aussi fragmentés.

Le corps atrétique devient une masse de cellules à l'aspect spongieux dû à la présence de grosses vacuoles lipidiques et chargées ou non de mélanine. Un réseau de capillaires abondants et dilatés entoure le corps atrétique et pénètre même à l'intérieur (Pl. XXIV, fig 2). La périphérie est constituée d'une couche cellulaire représentant sans doute l'ancienne thèque de l'ovocyte.

Il apparaît dans toutes les cellules des images de dégénérescence (pycnose, caryorhexis). A mesure que leur nombre augmente, la taille du corps atrétique diminue, le pigment mélanique s'y concentre, et en fin d'évolution il n'est plus qu'une petite masse chargée de pigments dans laquelle il n'est plus possible de distinguer une structure cellulaire (Pl. XXIV, fig 6). On peut d'ailleurs observer aisément ces éléments sous la loupe, à ce stade ils semblent persister plusieurs semaines alors qu'ils s'étaient formés en une semaine environ.

CAS DES OVOCYTES NON VITELLINS

Un très petit nombre de jeunes ovocytes dépourvus de réserves vitellines présente des signes de dégénérescence. On observe en effet d'une part la présence des vacuoles périphériques rencontrées dans les ovocytes vitellins, et d'autre part la présence de cellules phagocytaires dans leur cytoplasme et la fragmentation des nucléoles dans leur noyau (Pl. XXV, fig 1 et 2). La rareté de ce phénomène n'a pas permis de suivre l'évolution de ces ovocytes ; en tout cas s'ils donnent des corps atrétiques, ils ne sont pas différents des précédents.

REGRESSION D'ORIGINE PARASITAIRE

Chez quelques animaux l'atrésie frappe non pas des ovocytes isolés, mais toute une partie ou même la totalité d'un ovaire. Les ovocytes sont dans ce cas envahis par un parasite (Protozoaire que nous n'avons pas déterminé). Les cellules folliculeuses phagocytent aussi ces ovocytes, mais seulement quand le parasite a pénétré dans le cytoplasme,

que le noyau soit atteint ou non (Pl. XXV, fig 3). L'évolution est ensuite la même que celle que nous avons décrite, mais le nombre de cellules phagocytaires est beaucoup plus élevé, tandis qu'il y a moins de lipides et de pigments mélaniques (Pl. XXV, fig 4). Tous les ovocytes vitellins ou non peuvent être atteints par cette dégénérescence.

LES CORPS JAUNES

Après la ponte ovulaire, le follicule et la thèque, qui restent dans l'ovaire, forment un massif cellulaire très différent du corps atrétique (Pl. XXV, fig 5 et 6). Ce corps jaune (dans lequel nous n'avons pas décelé de pigments caroténoïdes) est formé de deux zones concentriques entourant un centre creux ; il est ouvert par un côté, à l'endroit correspondant à la zone de déhiscence. La zone externe, contenant quelques capillaires, est limitée de part et d'autre par une membrane PAS positive et contient de rares cellules disposées irrégulièrement. La couche interne est formée de cellules grossièrement prismatiques très resserrées, dont les plus internes montrent des signes de dégénérescence (pycnose) ; ces débris cellulaires tombent dans la cavité centrale et sont rejetés à l'extérieur de l'ovaire. Il semble que la couche externe corresponde à la thèque, et la couche interne au follicule. L'ensemble de ce corps jaune dégénère peu à peu du centre vers la périphérie, et il disparaît complètement en quinze jours.

DISCUSSION

L'ensemble de cette description correspond pour l'essentiel à ce qui a été observé chez les espèces voisines d'Amphibiens par divers auteurs (STIEVE, 1901 ; BÜLHER 1903 ; DUBUISSON, 1903 ; PEREZ, 1903 ; BURNS, 1932 ; GALLIEN, 1939 ; TUCHMANN-DUPLESSIS, 1945). Tous ont décrit l'envahissement de l'ovocyte par les cellules folliculeuses, et sa transformation en tissu conjonctif dont les éléments finissent par dégénérer. Cette description est très proche de ce que l'on observe chez les Poissons (BRETSCHNEIDER et DE WIT, 1947) et chez les Reptiles (PANIGEL, 1951 ; BRAGDON, 1952 ; GURAYA, 1965). Elle est en beaucoup de points différente de celle que l'on décrit dans les ovaires des Mammifères (BRAMBELL, 1956 ; INGRAM, 1962) ; il n'y a pas comme chez ces derniers formation de plusieurs sortes de corps atrétiques, ni dégénérescence des jeunes ovocytes. Les observations posent deux sortes de problèmes, les uns concernant les phénomènes de dégénérescence en général, les autres les rapports entre cellules folliculeuses et ovocyte.

Dans le premier groupe, le plus évident de ces problèmes est celui posé par la mélanogenèse importante qui commence dès le début de l'atrésie. Seuls sont décelables des pigments mélaniques, on ne trouve ni chromolipoïdes, ni caroténoïdes comme chez les Mammifères (REAGAN, 1950). Du fait qu'un hémisphère est souvent plus pigmenté que l'autre, et que la pigmentation est d'autant plus marquée que la maturation est plus avancée, on peut supposer que le siège de cette mélanogenèse est dans l'ovocyte lui-même. Se fait-elle avant ou après le début de la phagocytose par les cellules

folliculeuses, et quel est le support morphologique des pré-mélanosomes : mitochondries, dictyosomes ou autres organelles ?

Les modifications de la vascularisation sont fréquemment observées dans les processus dégénératifs. Il semble bien qu'elles ne précèdent pas le déclenchement de l'atrésie et donc qu'elles ne jouent aucun rôle dans son déterminisme. Elles n'apparaissent que lorsque l'atrésie est avancée, permettant l'apport de nombreux leucocytes qui participent à la phagocytose du corps atrétique. Ce serait sans doute le seul rôle de ces leucocytes, ils ne jouent sûrement pas le rôle déterminant dans le déclenchement de l'atrésie que leur attribue LIEBMAN (1945) ; nous n'avons jamais observé la pénétration de leucocytes dans l'ovocyte sain, comme l'a vu cet auteur.

La formation de vésicules dans le cytoplasme peut être due à une cytololyse, mais elle rappelle aussi un artefact provoqué par un défaut d'osmolarité du fixateur. L'utilisation de fixateurs différents, pour la microscopie électronique, et l'examen de ces vésicules, éventuellement formées à nouveau, devraient permettre de résoudre cette question.

La dégradation du vitellus pose un problème important. Les images que nous observons sont tout à fait superposables à celles qui se rencontrent lors de l'utilisation du vitellus au cours de l'embryogenèse (SELMAN et PAWSEY, 1965). D'autre part, dans les mêmes circonstances le vitellus pourrait se transformer en mitochondries (LANZAVECCHIA, 1960b). L'examen de cette dégradation devrait là encore permettre de vérifier cette assertion, et d'autre part de voir si à différents modes de dégradation (éventuellement) ne correspondent pas des plaquettes vitellines de nature ou d'origine distincte.

L'étude ultrastructurale devrait aussi pouvoir nous renseigner sur le sort ultime des organites de l'ovocyte : mitochondries, dictyosomes, réticulum, nucléoles et chromosomes et aussi sur le rôle éventuel de lysosomes au cours de cette dégénérescence.

Le deuxième groupe de problèmes concerne les rapports entre ovocyte et cellules folliculeuses ; celles-ci primitivement nourricières deviennent phagocytaires. Deux explications peuvent être données à ce changement de fonction : ou bien les cellules folliculeuses changent de fonction sous l'action d'un facteur hormonal (baisse du taux d'hormones gonadotropes) et agressent l'ovocyte qui pendant tout ce temps reste passif ; ou bien c'est l'ovocyte qui devient dégénérescent (sous l'effet de la chute du taux hormonal), et les cellules folliculeuses, sans changer fondamentalement de nature, mettraient en jeu une potentialité latente de phagocytose qui ne pouvait s'exercer tant que l'ovocyte était normal. En d'autres termes la question à résoudre peut se poser de la façon suivante : l'ovocyte dégénère-t-il parce qu'il n'est pas pondu, ou sa ponte est-elle impossible parce qu'il dégénère ?

Il s'agit donc de savoir où commence l'atrésie, si ses premiers signes apparaissent dans le follicule ou dans l'ovocyte, de savoir quel est le métabolisme atteint le premier et de connaître le mécanisme du changement de fonction des cellules folliculeuses. Admettant que l'atrésie n'atteint que les ovocytes vitellins, on pourrait reconnaître l'impact hormonal sur l'ovocyte ou le follicule, à condition de savoir quelle est la différence essentielle entre les ovocytes vitellins et les plus jeunes du point de vue ultrastructural.

L'OVOCYTE ATRETIQUE AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE

Les modifications des ultrastructures de l'ovocyte en début d'atrésie apparaissent dans l'ordre suivant : d'abord au niveau du cytoplasme, puis de la *zona radiata* et des cellules folliculeuses et enfin dans le noyau. Remarquons dès maintenant que cet ordre n'est pas celui que l'on observait en microscopie optique.

MODIFICATIONS DU CYTOPLASME

C'est à ce niveau qu'apparaissent les premiers signes de dégénérescence et ils sont nombreux. En premier lieu il s'agit des vacuoles périphériques que l'on observait au microscope optique, elles sont effectivement présentes là aussi. Elles se rencontrent de la même façon, dans certains ovocytes seulement et avec n'importe quel fixateur. Elles sont de grande taille (5μ en moyenne), bordées ou non par une membrane simple (Pl. XXVI, fig 1, 2 et 3). Leur contenu est variable, le plus souvent il s'agit de formations myéliniques denses et abondantes (Pl. XXVI, fig 1 et 2) ou de petites vésicules, ou encore de sortes de feuilletts membraneux ondulés (Pl. XXVI, fig 3). Dans certains cas on voit la formation de ces vésicules à partir du cytoplasme (Pl. XXVI, fig 4). L'ensemble de la vésicule est occupé en outre par un fin matériel fibrillaire très diffus (Pl. XXVI, fig 4). On peut observer la dégénérescence de mitochondries ou de grains de vitellus (Pl. XXVII, fig 1, 2 et 3) au bord de ces vacuoles ; ces organites se transforment d'emblée en vésicules ou en figures myéliniques. Il est possible d'observer dans le cytoplasme cortical la fusion de vacuoles de taille plus pe-

tite, ce qui semble représenter la formation des plus grosses, que nous avons décrites (Pl. XXVII, fig 4). Alors que fréquemment elles sont incluses complètement dans le cytoplasme, il peut arriver qu'elles s'ouvrent dans la *zona radiata* laissant échapper des fragments myéliniques hors de l'ovocyte (Pl. XXVII, fig 5).

Il existe une forme de cytolysse beaucoup plus typique, caractérisée par la présence dans certains ovocytes de vacuoles de petite taille (1μ environ), qui peuvent fusionner pour en donner de nouvelles de grande dimension (10μ et quelquefois 50μ) (Pl. XXVIII, fig 1 et 2). Ces vacuoles se rencontrent dans tout le cytoplasme et pas seulement dans le cortex ; peu à peu elles envahissent tout l'ovocyte. Elles ne contiennent jamais de figure myéliniques mais de très nombreux ribosomes dont la densité d'ensemble est bien moindre que dans le cytoplasme, ce qui permet de les voir associés en polysomes (Pl. XXVIII, fig 2). Elles sont toujours limitées par une membrane simple et elles semblent recueillir sur leur périphérie ces organites que nous avons interprétés comme des lysosomes dans l'ovocyte normal (Pl. XXVIII, fig 1).

Le réticulum endoplasmique prend, dans ces ovocytes, un aspect très particulier : ses vésicules ou saccules se gonflent considérablement, augmentant au moins cinquante fois leur volume. (Pl. XXVIII, fig 3 et 4, Pl. XXIX, fig 1). Elles contiennent elles aussi un matériel floconneux qui se transforme peu à peu en granules très déchiquetés (Pl. XXVIII fig 3 et 4). Ces granules se condensent, la membrane simple qui les entoure tend à disparaître et l'ensemble prend l'aspect d'un prémélanosome. (Pl. XXIX, fig 1 et 2). Les grains de mélanine sont très nombreux dans ces ovocytes, ils sont constitués de granules plus petits agglomérés, et

ils sont entourés d'une membrane discontinue. (Pl. XXIX, fig 2). Les lamelles annelées semblent subir le même sort, l'espace interlamellaire s'aggrandit, elles bourgeonnent des vésicules de réticulum qui se gonflent de la même manière que les précédentes (Pl. XXIX, fig 3). Les dictyosomes suivent une évolution très comparable, leurs saccules se fragmentent et les vésicules qui en résultent se gonflent elles aussi (Pl. XXIX, fig 4).

Les mitochondries sont atteintes assez tôt, mais en petit nombre d'abord. Leur matrix perd sa teinte foncée, les crêtes sont moins nombreuses, et les mitochondries elles-mêmes perdent leur forme allongée pour devenir globuleuses (Pl. XXIX, fig 5). Elles sont alors de taille plus importante et contiennent moins de grains denses que les mitochondries normales. Elles finiront par devenir de simples sacs à double membrane dont le contenu clair et sans crêtes peut s'ouvrir dans le cytoplasme environnant (Pl. XXX, fig 1).

Par ailleurs il apparaît çà et là dans le cytoplasme des zones de dimensions variables (10μ de diamètre environ), de contenu assez hétéroclite ; il peut s'agir de sortes de microtubules très courts (Pl. XXX, fig 2) ou bien de faisceaux de microfilaments très resserrés (Pl. XXX, fig 3) D'une façon générale la texture du hyaloplasme est plus lâche et plus diffuse que celle de l'ovocyte normal (Pl. XXX, fig 4).

Les plaquettes vitellines à ce stade ne présentent pas de modifications. Il y a souvent cependant rupture et disparition de la membrane qui les entoure.

Pendant ce temps, il y a une diminution du nombre des grains de sécrétion dans les cellules folliculeuses, mais sans signe de dégénérescence.

MODIFICATIONS DE LA ZONA RADIATA ET DES CELLULES FOLLICULEUSES

Les modifications affectant cette zone surviennent avec un léger retard sur les précédentes. Nous ne les observons que dans les ovocytes dont le cytoplasme est altéré et l'évolution de cette zone est très poussée lorsque nous l'observons dans des ovocytes dont le noyau, en plus du cytoplasme, est lui aussi altéré. Cette atteinte nucléaire survient incontestablement en dernier lieu.

Il apparaît d'abord dans le cortex de l'ovocyte une zone périphérique plus dense, une sorte d'ectoplasme de 1μ d'épaisseur qui est constitué, comme on le voit à fort grossissement, de fragments de microfilaments très enchevêtrés représentant sans doute les restes des racines des microvillosités de l'ovocyte normal (Pl. XXXI, fig 1 et 2). Ces dernières se rétractent, leurs microtubules internes semblant se rompre (Pl. XXXI, fig 3), puis elles se couchent sur la surface de l'ovocyte en laissant leur trace dans la *zona radiata* (Pl. XXXI, fig 4 et Pl. XXXII, fig 1 et 2). La membrane plasmique de l'ovocyte se trouve de la sorte rompue à la racine des microvillosités, tandis que celles-ci se fondent progressivement dans le cytoplasme. (Pl. XXXI, fig 4 et Pl. XXXII, fig 1).

Pendant que l'ovocyte est ainsi dépourvu de sa membrane, de très nombreux grains de 200 Å s'en échappent et migrent dans la *zona radiata* en suivant les emplacements laissés par les microvillosités (Pl. XXXII, fig 2). Ils la traversent complètement et vont s'accumuler dans sa couche externe le long des cellules folliculeuses (Pl. XXXII, fig 3).

Les microvillosités de ces cellules, qui avaient persisté jusqu'à ce moment, se rétractent elles aussi et s'inclinent sur la surface cellulaire, créant là aussi de nombreuses discontinuités dans la membrane plasmique (Pl. XXXII, fig 4). Par ces points de rupture de nombreux grains accumulés à proximité pénètrent dans les cellules folliculeuses. De plus, celles-ci présentent, dès que leur membrane s'est reformée, une activité pinocytotique très intense qu'elles n'avaient pas jusqu'alors (Pl. XXXIII, fig 1 à 4). Dans de très nombreux cas, les vésicules de pinocytose contiennent un ou plusieurs des grains venus de la *zona radiata*. Lorsqu'ils sont tous absorbés de la sorte, la cellule folliculeuse retrouve une membrane lisse avec quelques restes de microvillosités, et l'ovocyte a reconstitué une membrane plasmique absolument lisse, sans microvillosités ni microfilaments sous-jacents ; la *zona radiata* elle-même devenue homogène a une texture plus lâche et tend à diminuer de largeur (Pl. XXXIII, fig 5).

L'évolution des cellules folliculeuses est assez particulière. La cellule type possède des mitochondries à crêtes peu gonflées et de faible densité. Leur noyau a une chromatine diffuse (Pl. XXXIII, fig 6). Lorsque les grains s'accumulent le long de cette cellule et pénètrent à l'intérieur, les mitochondries changent d'aspect par suite du gonflement de leurs crêtes, et la chromatine du noyau devient beaucoup plus localisée (Pl. XXXIV, fig 1). Puis la cellule augmente de volume, devient moins allongée ; son noyau subit les mêmes modifications, et la chromatine est disposée en amas très distincts et très denses. Les organites de cette cellule, quels qu'ils soient, mitochondries, Golgi, réticulum, ont un aspect très gonflé et le cytoplasme est clair (Pl. XXXIV, fig 2). Lorsqu'il n'y a plus de grains dans la *zona radiata*, la cellule a repris une forme plus aplatie, ses organites ont un aspect normal (Pl. XXXIV, fig 3) et cette cellule finit par acquérir une forme irrè-

gulière avec pseudopodes, un noyau à chromatine uniformément dense, sauf sur un mince liseré périphérique, des mitochondries de forme irrégulière, et il subsiste dans son cytoplasme parmi diverses vésicules quelques microfilaments. Cette cellule absorbe la substance fondamentale de la zona radiata et vient au contact de l'ovocyte qu'elle commence à phagocyter (Pl. XXXIV, fig 4). La morphologie de cette cellule est celle des cellules phagocytaires que nous trouverons dans le corps atrétique.

L'ensemble de cette évolution est particulièrement facile à suivre, puisqu'elle débute en un ou plusieurs points de la surface de l'ovocyte pour se propager de proche en proche sur tout son pourtour ; il est donc facile de reconnaître ces différentes phases.

MODIFICATIONS DU NOYAU

C'est au moment où disparaît la *zona radiata* que le noyau présente de profonds changements de structure. Les plus marquants sont ceux présentés par les nucléoles.

Leurs deux composants granulaire et fibrillaire, qui sont normalement étroitement associés, se séparent complètement ; le plus souvent, au début en tout cas, c'est la partie fibrillaire qui s'échappe du nucléole en amas de taille variable ($0,5\mu$ à 1μ). (Pl. XXXV, fig 1 à 3). En même temps apparaissent de gros grains très osmiophiles, de 500 Å environ, groupés en amas dans des échancrures de la périphérie du nucléole ou dans les vacuoles creusées dans celui-ci (Pl. XXXV, fig 4). A un stade plus avancé ce sont des amas formés par des portions de la zone granulaire que l'on observe isolément (Pl. XXXVI, fig 1 et 2). La substance nucléolaire sem-

ble alors dégénérer complètement, les grains de 500 Å s'y incorporant ou s'y développant en plus grand nombre. Puis il ne reste du nucléole que des fragments juxtaposés bien distincts, soit fibrillaires, soit granulaires avec des zones très denses, pycnotiques, et d'autres formées de matériel amorphe creusé de logettes contenant un grain (Pl. XXXVI, fig 3 et 4).

Les micronucléoles, qu'ils soient isolés ou accolés aux gros nucléoles, subissent un sort identique. On retrouve en effet des formations de 1μ de diamètre constituées d'amas fibrillaires, de zones granulaires et aussi des grains denses de 500 Å (Pl. XXXVII, fig 1) ; il y a donc là aussi ségrégation des composants nucléolaires et dégénérescence. On rencontre aussi de petites formations uniquement fibrillaires, qui semblent être le résultat de cette ségrégation de l'une ou l'autre sorte de nucléoles (Pl. XXXVII, fig 2). Les mêmes images apparaissent à la surface de gros nucléoles présentant peu ou pas de modifications, il s'agit sans doute de micronucléoles atteints par ces altérations au moment où ils sont accolés aux plus gros (Pl. XXXVII, fig 3).

Dans le nucléoplasme les alignements de grains sont rompus et désorganisés, la taille de ces derniers passant de 400 Å à 700 ou 800 Å (Pl. XXXVII, fig 4). La membrane nucléaire se fragmente tardivement, après toutes ces altérations, et subit le sort du réticulum endoplasmique.

CAS DES OVOCYTES NON VITELLINS

Nous n'avons pas observé dans les ovocytes dépourvus de vitellus de signes de dégénérescence importante comme dans les plus gros. Nous observons seulement les vésicules péri-

phériques que nous avons décrites en microscopie optique, et aussi des nucléoles anormalement vacuolisés (Pl. XXXVIII, fig 1) ou fragmentés. En outre, ces nucléoles sont accompagnés de formations lamellaires rappelant des figures myéliniques. Souvent arrondies, d'un demi μ de diamètre au plus, elles sont constituées d'une dizaine de lamelles osmiophiles, à peu près concentriques et anastomosées (Pl. XXXVIII, fig 3 et 4). Dans de nombreux cas ces lamelles entourent une substance amorphe (Pl. XXXVIII, fig 4). Le plus souvent ces formations se trouvent dans le noyau à proximité d'un nucléole (Pl. XXXVIII, fig 2 et 3), et dans un ovocyte presque tous les nucléoles sont ainsi accompagnés de ces lamelles. On les trouve aussi dans le cytoplasme périnucléaire, mais toujours face à un nucléole (Pl. XXXIX, fig 1). Elles peuvent être isolées ou groupées et sont d'autant plus nombreuses que le nucléole est plus fragmenté (Pl. XXXIX, fig 2). Dans quelques cas, il semble y avoir une continuité entre ces formations myéliniques et les nucléoles (Pl. XXXVIII, fig 2 et Pl. XXXIX, fig 3), mais nous n'avons pas observé de véritables relations entre elles et la membrane nucléaire (Pl. XXXIX, fig 4).

LE CORPS ATRETIQUE

Le corps atrétique lui-même ne présente pas un grand intérêt. C'est un massif cellulaire conjonctif dans lequel on reconnaît une abondante substance fondamentale avec des fibres de collagène (Pl. XL, fig 1) et divers types de cellules dont les plus nombreuses sont des cellules phagocytaires dérivant des anciennes cellules folliculeuses. Elles émettent de longs pseudopodes et sont souvent très pigmentées (Pl. XL, fig 2). Leur cytoplasme contient de nombreuses et volumineuses vacuoles de phagocytose contenant divers organites de

l'ovocyte en dégénérescence. Certaines de ces vésicules contiennent exclusivement des ribosomes qui sont alors plus ou moins régulièrement alignés (Pl. XL, fig 3 et 4).

L'évolution des plaquettes vitellines à l'intérieur de ces macrophages est très complexe. A faible grossissement (Pl. XLI, fig 1) les aspects pris par les plaquettes sont très divers ; il semble y avoir une fragmentation avant transformation en structures différentes ; souvent les plaquettes se transforment en amas vésiculaires (Pl. XLI, fig 2). En réalité à fort grossissement toutes ces images sont les mêmes ; il s'agit de structures myéliniques très enchevêtrées (Pl. XLI, fig 3 et 4) ; ces plaquettes vitellines se transforment de la sorte de la périphérie vers le centre, le noyau cristallin étant le dernier atteint. Très fréquemment, à l'intérieur de ces amas de figures myéliniques, on distingue des prémélanosomes ou des mélanosomes bien constitués qui proviennent incontestablement des restes de plaquettes vitellines (Pl. XLII, fig 1 à 4). Si l'on excepte donc la fragmentation de certaines plaquettes ou une transformation en substance granuleuse que nous n'avons que très rarement observée, tous les grains de vitellus subissent la même dégradation en formations myéliniques.

DISCUSSION

Il y a, nous l'avons vu, deux aspects à envisager dans ce phénomène de l'atrésie ovocytaire : celui de la dégénérescence cellulaire et celui du mécanisme de l'atrésie ; ils sont étroitement liés, nous traiterons donc du premier à l'occasion de la discussion du second, sauf en ce qui concerne le corps atrétique lui-même, dont nous parlerons en fin de discussion seulement.

Ces observations de microscopie électronique sont évidemment insuffisantes pour nous permettre d'élucider entièrement le problème de l'atrésie ; nous pourrions cependant tracer un schéma d'ensemble qui devrait être vérifié par une étude histochimique et autoradiographique. Nous devons pour cela répondre à un certain nombre de questions.

- Où siègent les premières manifestations de l'atrésie, dans l'ovocyte ou dans le follicule ? Dans l'un ou l'autre cas, à quel endroit de ces cellules ?
- Quel est, dans l'un ou l'autre cas, le métabolisme atteint le premier ?
- Quel est le mécanisme d'action des hormones gonadotropes, en particulier de la FSH ?
- Comment les cellules folliculeuses se transforment-elles en cellules phagocytaires ?

LE SIEGE DES PREMIERES MANIFESTATIONS DE L'ATRESIE

Nous observons dans l'ordre chronologique :

- d'abord des modifications peu apparentes de certaines cellules folliculeuses et simultanément une cytolyse importan-

te des organites cytoplasmiques de l'ovocyte.

- puis une rupture de la membrane plasmique de l'ovocyte avec émission de grains dans la *zona radiata*, et une transformation des cellules folliculeuses en cellules phagocytaires après absorption de ces grains.
- ensuite des modifications du noyau de l'ovocyte consistant essentiellement en une ségrégation nucléolaire.
- et enfin la phagocytose de l'ovocyte par les cellules folliculeuses transformées en macrophages.

Les premières manifestations de dégénérescence siègent indiscutablement dans l'ovocyte ; dans les cellules folliculeuses, il n'y a pas, à ce stade précoce, de dégénérescence à proprement parler ; il y a seulement diminution du nombre de grains de sécrétion dans un petit nombre d'entre elles. Dans l'ovocyte les premières atteintes semblent être cytoplasmiques.

On admet facilement qu'un des métabolismes de l'ovocyte a été perturbé, entraînant par la suite une série de troubles généraux dans la cellule. Ce métabolisme est soit nucléaire, soit cytoplasmique, en découpant artificiellement et provisoirement le fonctionnement de l'ovocyte. Le point de départ de l'atrésie est donc central ou périphérique :

- central, ou nucléaire : ce ne peut être qu'une atteinte du système ADN -ARN - synthèse des protéines, c'est-à-dire, en définitive, de la synthèse d'ARN (puisque'il s'agit du noyau seulement et d'un noyau en division).
- périphérique, ou cytoplasmique : défaut de fonctionnement d'un métabolisme par manque d'un substrat ou déficience d'un système enzymatique.

L'atteinte du noyau se traduit morphologiquement par une pycnose, qui est extrêmement fréquente et banale dans les dégénérescences cellulaires, et surtout, auparavant, par une véritable ségrégation nucléolaire. Elle n'a jamais été décrite dans les conditions naturelles, mais uniquement sous l'action d'antimétabolites tels que l'actinomycine (JEZEQUEL et BERNHARD, 1964 ; JONES, 1967), la nitroquinoline (REYNOLDS et al., 1963), la mitomycine (LAPIS et BERNHARD, 1965), l'aflatoxine (BERNHARD et al., 1965), l'éthionine (SHINOZUKA, 1968), etc ... Or toutes ces substances sont connues pour perturber le système ADN-ARN, de différentes façons : l'actinomycine en bloquant les groupes guanines de l'ARN, la nitroquinoline en diminuant la production de DPN et d'ATP, la mitomycine en inhibant la synthèse de l'ADN, l'aflatoxine en inhibant l'ARN-polymérase, l'éthionine en diminuant le taux d'ATP (voir BERNHARD et GRANBOULAN, 1968). Tous les expérimentateurs ont noté l'extrême rapidité avec laquelle ces troubles apparaissent après l'administration de ces drogues, dans les délais ne dépassant pas quelques heures. Dans l'ovocyte atrétique, cette sécrégation nucléolaire survient longtemps après les altérations cytoplasmiques ; elle n'est donc pas primitive et elle est la conséquence de l'atteinte d'un métabolisme cytoplasmique. Il semble que dans ce cas les modifications morphologiques apparaissent dans le même ordre chronologique que les troubles métaboliques. Le siège des premières atteintes de l'atrésie se situe donc dans le cytoplasme de l'ovocyte.

NATURE DU METABOLISME ATTEINT LE PREMIER

Connaissant les causes de la ségrégation nucléolaire provoquée expérimentalement, il apparaît que le métabolis-

me atteint le premier, dans le cytoplasme, est normalement producteur d'un nucléotide ou d'un enzyme nécessaire à la synthèse de l'ARN dans le noyau. Il est difficile de préciser la nature de ce métabolisme ; on doit cependant pouvoir cerner le problème en passant en revue l'ensemble des altérations cytoplasmiques.

Les plus précoces sont représentées par l'apparition des vacuoles périphériques que nous observons aussi bien en microscopie électronique qu'en microscopie optique. Les formations myéliniques qu'elles contiennent sont fréquentes dans les cellules en dégénérescence, et la question s'est posée de savoir s'il ne s'agissait pas d'un artéfact; on a en effet soupçonné certains fixateurs, en particulier le glutaraldéhyde, de provoquer leur apparition (CURGY, 1968). Même si c'est le cas, il faut admettre que ces artéfacts n'apparaissent pas dans toutes les cellules et à n'importe quel endroit de ces cellules. Ainsi seuls certains ovocytes en contiennent, et seulement en certains points du cytoplasme périphérique. Si ces formations myéliniques sont des artéfacts, il est probable qu'elles ne se forment que dans des zones cytoplasmiques en état de souffrance, dans les ovocytes en début d'atrésie. Les vacuoles ressemblent beaucoup à des vésicules autophagiques ; on observe d'ailleurs des stades de leur formation et la présence sur leurs bords d'organites plus ou moins dégradés (mitochondries en particulier).

Il existe par ailleurs une cytolysse extrêmement importante représentée par des vésicules de toute taille, bordées par une membrane, contenant des résidus cytoplasmiques. Elles confluent avec des organites que nous pensons être des lysosomes, bien que leur présence dans les ovocytes soit quelquefois contestée (BRACHET, 1960). Ces images sont tout à fait identiques à celles qui ont été décrites dans tous les

processus de cytolysse : séquestration de zones cytoplasmiques par une membrane et fusion avec des lysosomes. On ne connaît pas le déterminisme de l'apparition des lysosomes, de l'accroissement de leur activité, ni du déclenchement de la cytolysse. Ici il semble y avoir augmentation du nombre de lysosomes au début de ce processus dégénératif, ce qui est conforme à l'hypothèse de NOVIKOFF et al. (1962). L'origine de la membrane entourant ces vésicules est aussi très discutée, ou bien elle provient des saccules de réticulum (NOVIKOFF et SHIN, 1964) ou des saccules golgiens (FRANK et CHRISTENSEN, 1968), ou bien elle se forme *de novo* (NAPOLITANO, 1963) ; il semble que ce dernier cas soit celui que l'on observe ici, les saccules de réticulum suivant une autre évolution, de même que les dictyosomes.

L'aspect des organites de l'ovocyte atrétique est lui aussi très caractéristique des dégénérescences cellulaires. Le gonflement des vésicules du Golgi et du réticulum s'observe fréquemment ; on ne sait pas l'expliquer, sinon pour les dictyosomes qui prendraient cet aspect après inhibition du transport actif de Na et K (WHETZELL et BUNGE 1969). L'évolution des mitochondries est mieux expliquée ; leur gonflement est bien connu dans toute sorte de circonstances visant à réduire leur activité métabolique (REYNOLDS 1965 ; MAZUROVSKY et al., 1967 ; HACKENBROCK, 1966). De même la disparition des grains denses de leur matrix (dépôts de Ca) est caractéristique d'une baisse d'activité, donc d'une baisse de la production d'ATP (CARAFOLLI et ROSSI , 1969).

La mélanogenèse importante que nous observons est elle aussi courante dans ces phénomènes. Elle peut être due à une augmentation de la quantité d'enzymes (oxydases) nécessaires à la formation de la mélanine ; mais elle peut

aussi s'expliquer par l'accroissement du taux d'acides aminés aromatiques libérés par la destruction des protéines lors de la cytolyse. Les prémélanosomes semblent se former dans des vésicules de réticulum. On en a décrit diverses sortes : à partir des dictyosomes (MAUL, 1969), à partir des mitochondries (WOODS et HUNTER, 1959) ; et dans les ovocytes d'Amphibiens (non atrétiques) WARTENBERG (1962) fait les mêmes observations que nous.

La dégradation des plaquettes vitellines est très limitée, avant la phagocytose par les cellules folliculeuses. Elle se traduit par une rupture de leur membrane alors qu'elles ne sont pas, la plupart du temps, accolées à des lysosomes. Il y a donc une certaine fragilité des membranes.

Il y a une fragilité identique à la périphérie de l'ovocyte, puisque la membrane plasmique se rompt temporairement après repli des microvillosités. La même observation a été effectuée lors du remaniement de l'épithélium intestinal chez la larve d'*Alytes* (HOURDRY, 1969). On peut se demander s'il s'agit d'une fragilité de la membrane ou du squelette interne des microvillosités ; leur repli sur le cortex de l'ovocyte provoquerait des ruptures de la membrane plasmique.

Il est malaisé de trouver un point commun à toutes ces manifestations de dégénérescence cellulaire ; l'unanimité est loin d'être faite sur le déterminisme de la cytolyse. Il semble important de retenir d'abord l'état des mitochondries ; elles sont atteintes très tôt et leur fonction, productrice d'ATP, semble très tôt inhibée. Il faut retenir un point commun à beaucoup de ces altérations : la fragilité des membranes (des lysosomes, des plaquettes vitellines, de l'ovocyte lui-même) ; la diminution du taux d'ATP cytoplasmique peut en être

la cause. Il est donc possible que le premier métabolisme atteint dans le cytoplasme soit celui de la production d'ATP par les mitochondries ; sa perturbation est susceptible d'entraîner l'ensemble des autres troubles cytoplasmiques ou nucléaires.

MODE D'ACTION DE LA FSH

Sachant que c'est la diminution du taux de la FSH qui provoque l'atrésie ovocytaire, il est possible de connaître son mode d'action. Nous devons admettre que la FSH agit sur le métabolisme producteur d'ATP, et donc qu'elle est un activateur du cycle de KREBS, dans les mitochondries, directement ou indirectement.

La diminution de la production d'ATP, due à un mauvais fonctionnement du cycle de KREBS, peut avoir plusieurs causes. Il peut s'agir d'un mauvais approvisionnement en oxygène, ce ne semble pas être le cas puisque l'ovocyte atrétique est hypervascularisé. Un défaut de phosphore peut avoir le même résultat ; de même une mauvaise absorption de glucides ou de lipides nécessaires au fonctionnement du cycle de KREBS. Mais nous savons que l'ovocyte en début d'atrésie continue à absorber des éléments venus de l'extérieur, l'abondance des vésicules de pinocytose, dans ces ovocytes comme dans les autres, le démontre. Il est donc probable que c'est un défaut de fonctionnement du système enzymatique du cycle de KREBS ou une inhibition de l'ATPase qui est responsable de la chute de la production d'ATP.

Il est peu probable que la FSH agisse directement sur l'un ou l'autre de ces facteurs. Il faut en effet se rappeler qu'au début de l'atrésie, il y a disparition des grains

de sécrétion de certaines cellules folliculeuses ; il est possible que ces cellules sécrètent de la progestérone (MASUI, 1967). L'on sait d'autre part que la croissance de l'ovocyte d'Amphibien s'arrête si on enlève le follicule, même sous l'influence des hormones ganodotropes, et qu'elle se poursuit en l'absence de ces hormones si on ajoute au milieu de culture de la progestérone (DETTLAFF et SKOBLINA, 1969). La FSH agirait donc sur le follicule en stimulant une sécrétion de progestérone nécessaire à la croissance de l'ovocyte. La chute du taux de FSH entraînerait donc la disparition des grains de sécrétion du follicule ; cette absence de progestérone serait responsable de la baisse de production d'ATP. Ceci est confirmé par le fait que la progestérone exerce, entre autres, un effet activateur sur l'ATPase (WADE et JONES, 1956).

Le mode d'action de la FSH sur le métabolisme producteur d'ATP dans l'ovocyte se ferait donc par l'intermédiaire de la progestérone sécrétée sous son influence par les cellules folliculeuses. Il n'est pas impossible que l'action de la progestérone sur ce métabolisme ne s'exerce de plusieurs façons, en plus de son effet activateur sur l'ATPase.

On doit de la sorte comprendre pourquoi l'atrésie atteint tel ovocyte et non tel autre, sans distinction de taille et donc de degré de maturation (à condition que la vitellogenèse soit entamée). Lorsque le taux de la FSH est trop bas, un nombre moindre de cellules folliculeuses dans l'ovaire subit son action, et un ovocyte devient atrétique lorsqu'un nombre critique de ses cellules folliculeuses échappent au contrôle de la FSH. Ce qui expliquerait pourquoi les premières modifications du follicule apparaissent çà et là autour de l'ovocyte et non pas d'emblée sur tout son pourtour.

CAS DES JEUNES OVOCYTES NON VITELLINS

Ils échappent à l'atrésie de même qu'ils échappent à l'influence des hormones gonadotropes. Dans les ovocytes vitellins la FSH stimule un métabolisme dont l'arrêt entraîne la mort et non une simple mise en sommeil. Ils sont donc en quelque sorte soumis à une menace continue, contre laquelle ils sont protégés par le taux d'ATP cytoplasmique. Celle-ci est sans doute représentée par les lysosomes qui entrent en activité lors de la baisse d'ATP et qu'on ne trouve pas dans les ovocytes non vitellins. Par ailleurs il se peut que la chute du taux d'ATP soit accélérée dans les ovocytes vitellins, par suite de la consommation importante de phosphore, nécessaire à la synthèse du vitellus, et ainsi soustrait à la cellule pour sa production d'ATP.

On observe cependant des altérations nucléaires des jeunes ovocytes. Les nucléoles en effet se transforment en formations myéliniques. Cependant il n'y a pas de signes de dégénérescence importants dans ces cellules ; et nous ne pouvons considérer ces atteintes nucléaires que comme des modifications réversibles, ou comme un processus atrétique différent et n'atteignant que de rares jeunes ovocytes.

TRANSFORMATION DES CELLULES FOLLICULEUSES EN MACROPHAGES

Les cellules folliculeuses subissent une évolution qui les amènent d'abord à un stade indifférencié ; elles perdent leurs grains de sécrétion, deviennent plus volumineuses et plus globuleuses ; elles prennent un aspect clair caractéristique de cellules jeunes indifférenciées. Ces cellules, échappant à l'action de la FSH, deviendraient donc des cellu-

les de type fibroblastique. C'est un phénomène identique qu'observent FOOTE et FOOTE (1957) : les ovocytes d'Amphibiens en milieu de culture sans hormones gonadotropes cessent leur maturation et les cellules folliculeuses se transforment en fibroblastes.

Le deuxième stade de leur évolution est extrêmement difficile à expliquer. L'ovocyte étant devenu atrétique, par suite de l'absence de sécrétion des cellules folliculeuses, celles-ci passent du stade indifférencié à un état histiocytaire. Il faut admettre une information de l'ovocyte vers ces cellules. Les grains que nous voyons sortir de l'ovocyte à ce moment, pour être absorbés par les cellules folliculeuses, pourraient en être le support. Ces grains ont la taille des ribosomes et aussi de particules de glycogène β ; ils ne disparaissent pas après action de l'amylase. Comme nous avons pratiqué cette réaction spécifique dans des conditions différentes (araldite au lieu de l'épon) de celle préconisées dans la méthode *princeps*, nous devons considérer ces grains comme des ribosomes sous toute réserve. On ne connaît pas de cas de passage d'ARN d'une cellule à l'autre ; on le soupçonne dans les phénomènes d'induction et entre certaines cellules immuno-compétentes. Quoi qu'il en soit, il faudrait savoir si ce passage de grains est actif ou passif, consécutif à une sortie des substances corticales de l'ovocyte après rupture de sa membrane plasmique. La proximité de ces ribosomes détermine-t-elle chez les cellules fibroblastiques une induction histiocytaire se traduisant par une importante activité d'abord pinocytotique puis phagocytaire ? Est-ce l'absorption des ribosomes qui détermine cette transformation histiocytaire ? Il n'est pas possible de répondre à ces questions, sans expérimentation. La transformation histiocytaire de cellules d'origine mésodermique (et c'est le cas de ces cellules folliculeuses) est

connue, mais on n'a mis en cause jusqu'à maintenant pour l'expliquer que l'influence de substances dérivées de la choline, dont on ne peut pas trouver trace ici (CHEVREMONT, 1948, 1953).

LE CORPS ATRETIQUE

Dans le corps atrétique il y a plusieurs modes de dégradation des plaquettes vitellines. Certaines se fragmentent, d'autres, très rares, subissent une transformation granuleuse, mais la plupart deviennent des faisceaux de formations myéliniques. On peut rapprocher ces divers modes de dégradation des différents processus de formation des plaquettes vitellines ; mais la quantité de plaquettes se transformant en lamelles myéliniques est très importante par rapport aux autres systèmes de dégradation, alors qu'il n'y a pas une telle disproportion entre les divers modes de formation. On ne peut donc pas trouver là un argument en faveur de l'existence de plusieurs populations de plaquettes vitellines, différentes selon leur origine. Ce mode de dégénérescence du vitellus est assez différent de ceux que l'on décrit dans l'embryogenèse (KARASAKI, 1963b), et en tout cas les grains vitellins ne redonnent jamais des mitochondries comme l'observe LANZAVECCHIA (1960b) dans les cellules des embryons d'Amphibiens.

Il est intéressant de noter la formation de mélanosomes dans ces produits de dégénérescence du vitellus. Une étude histochimique serait nécessaire pour donner une explication de ce phénomène ; le problème est superposable à celui qui se pose pour la mélanogenèse dans l'ovocyte avant sa phagocytose.

CONCLUSION

Le mécanisme de l'atrésie ovocytaire semble le suivant : le taux de la FSH hypophysaire diminuant, les cellules folliculeuses cessent de sécréter de la progestérone et se transforment en cellules de type fibroblastique. La disparition de la progestérone perturbe le métabolisme producteur d'ATP dans l'ovocyte entraînant une cytolypse et une ségrégation nucléolaire. La membrane plasmique de l'ovocyte se rompt et laisse s'échapper des ribosomes qui jouent peut être un rôle dans la transformation des cellules fibroblastiques en macrophages. Ceux-ci phagocytent ensuite l'ovocyte en dégénérescence.

Le corps atrétique semble être seulement un résidu sans fonction sécrétoire.

L'OVOGENESE

Au cours de cette étude au microscope électronique de l'ovogenèse chez *Triturus helveticus* Raz. nous nous sommes surtout attachés à l'examen du noyau, des lamelles annelées, de la vitellogenèse et des enveloppes de l'ovocyte, les autres organites (mitochondries, dictyosomes, etc ...) étant décrits seulement au cours de ces différents chapitres.

LE NOYAU

En début d'ovogenèse, le noyau contient des nucléoles tous identiques, constitués de matériel fibrillaire, et disposés à sa périphérie. Pendant la vitellogenèse, les nucléoles, beaucoup plus nombreux, et répartis à la périphérie ou au centre du noyau, ont la structure double classique, fibrillaire et granulaire. Il apparaît à ce moment des micronucléoles qui sont de trois sortes et qui peuvent être en relation avec les nucléoles ou les chromosomes. Ceux-ci sont constitués de grains de 400 Å ; on retrouve des grains identiques dans le nucléoplasme et dans certains micronucléoles. La membrane nucléaire laisse passer, par ses pores, des émissions nucléaires qui deviennent, dans le cytoplasme, un ciment intermitochondrial. L'étude morphologique du noyau ne nous permet pas de résoudre les nombreuses questions concernant les métabolismes nucléaires et les relations nucléo-cytoplasmiques. Nous l'envisageons surtout comme point de référence par rapport aux structures anormales de l'ovocyte atrétique.

LES LAMELLES ANNELEES

Le réticulum endoplasmique est surtout représenté par des saccules ou des vésicules lisses, les ribosomes étant libres et diffus. Les lamelles annelées sont très abondantes ; leur nombre varie au cours de l'ovogenèse : il y a d'abord un accroissement, puis une diminution, et un nouvel accroissement avant leur disparition en fin de maturation. Leur structure est classique, identique à celle de la membrane nucléaire ; l'anneau des pores semble constitué d'ARN. Elles sont disposées en empilements généralement réguliers, sauf au moment de leur formation. Dans ce cas, elles sont désorganisées et incomplètes ; il s'agit d'une fusion de saccules de réticulum suivie de la formation des pores. Les lamelles annelées peuvent reconstituer du réticulum, vésiculaire ou tubulaire, et même un type spécial de saccules endoplasmiques en relation avec l'appareil de Golgi. Elles ne proviennent pas de la membrane nucléaire, mais du réticulum, et il peut y avoir passage de l'une à l'autre de ces trois formations, dans n'importe quel sens. Il faut donc considérer lamelles annelées et membrane nucléaire comme une même différenciation temporaire de réticulum endoplasmique. La fonction des lamelles annelées est inconnue, mais dans notre optique elle doit être recherchée au niveau de leur différenciation commune avec la membrane nucléaire, c'est-à-dire le pore et surtout l'anneau du pore. Ce qui nous conduit à considérer cet anneau, dans le cas de la membrane nucléaire, comme un site actif métabolique et non seulement comme un lieu de passage de matériel nucléaire vers le cytoplasme.

LA VITELLOGENESE

La vitellogenese primaire débute dans les ovocytes de 250μ , elle se poursuit jusqu'à la fin de l'ovogenèse, et elle

est à différenciation centripète ; la vitellogenèse secondaire, ou tardive, commence dans les ovocytes de 700 μ environ, et elle est à différenciation centrifuge.

Le vitellus primaire se forme selon quatre processus distincts, les trois premiers s'effectuant simultanément pendant la première moitié de l'ovogenèse et le quatrième plus tard, en même temps que la vitellogenèse secondaire, qui fait appel à un processus distinct des précédents.

Nous observons un mode de vitellogenèse intramitochondrial, par transformation des crêtes et dépôt d'un matériel nouveau dans et entre les crêtes, l'ensemble de la mitochondrie se transformant en un noyau paracristallin. Le second mode vitellogène fait intervenir des dictyosomes ; les vésicules golgiennes fusionnent et constituent un précurseur vitellin à structure paracristalline. Un troisième mode fait intervenir en même temps mitochondries, Golgi et substance cytoplasmique amorphe. Pendant la deuxième moitié de l'ovogenèse, des vésicules de pinocytose fusionnent et donnent elles aussi des précurseurs vitellins ; ce dernier processus est quantitativement très important. Le vitellus secondaire se forme à l'intérieur de saccules de réticulum ; ses plaquettes, de petite dimension, sont dépourvues de réseau paracristallin. Le réticulum intervient en outre dans l'élaboration terminale des grains de vitellus primaire.

Nous n'avons pu observer de différences de structure entre les plaquettes de provenances diverses, tout au moins celles de vitellus primaire ; mais celui-ci est différent du vitellus secondaire. L'origine des protéines vitellines semble mixte, endogène pour le vitellus secondaire, exogène pour la plus grande partie du vitellus primaire.

LES ENVELOPPES DE L'OVOCYTE

Ce sont, de l'extérieur vers l'intérieur : un épithélium de surface, sans particularité ; une thèque avec des cellules conjonctives et du collagène ; un épithélium folliculaire, unistratifié, contenant sans doute des grains de sécrétion. La *zona radiata*, constituée d'une substance fondamentale fibreuse est traversée par deux systèmes de microvillosités ; les unes, émises par l'ovocyte, ne la traversent pas complètement, les autres, émises par les cellules folliculeuses, sont reliées à l'ovocyte par des desmosomes particuliers, rappelant des desmosomes septaux. Les unes et les autres possèdent un squelette interne constitué de microtubules, se prolongeant dans le cytoplasme sous-jacent par des microfilaments. Ces microvillosités de l'ovocyte apparaissent d'abord couchées sur le cortex et se relèvent après avoir atteint leur taille définitive ; celles des cellules folliculeuses se forment par étirement de prolongements cytoplasmiques plus larges. La substance fondamentale de la *zona radiata* est probablement formée par les deux cellules, ovocyte et cellule folliculeuse.

ORGANITES ENIGMATIQUES

Nous décrivons en outre des organites dont l'aspect rappelle celui des lysosomes et qui sont souvent voisins de zones cytoplasmiques en état de cytolysse.

Nous avons rencontré aussi dans le cytoplasme de l'ovocyte deux types de structures périodiques, les unes étant sans doute constituées des microtubules particuliers, les autres représentant peut-être un agencement régulier de ribosomes.

L'ATRESIE OVOCYTAIRE

L'atrésie ovocytaire se produit au moment de la ponte et n'affecte que les ovocytes vitellins (sauf dans le cas d'une atteinte parasitaire). Les ovocytes atrétiques sont phagocytés par leurs cellules folliculeuses et par d'autres cellules venues de l'extérieur ; l'ensemble prend un aspect conjonctif, avec abondance de lipides et de pigment mélanique. Le corps atrétique, différent du corps jaune que nous n'avons pas étudié, dégénère complètement en quelques semaines. Étudiée au microscope électronique, l'atrésie ovocytaire se présente de la façon suivante : atteinte du cytoplasme de l'ovocyte, avec en même temps quelques modifications de structure des cellules folliculeuses, puis atteinte du cortex et transformation des cellules folliculeuses en cellules phagocytaires, et enfin dégénérescence du noyau de l'ovocyte.

ATTEINTES CYTOPLASMIQUES

Il y a une cytolysse importante, représentée par des vacuoles périphériques et surtout par des zones cytoplasmiques de grande surface en dégénérescence, au contact des organites que nous pensons être des lysosomes. Le réticulum endoplasmique, les lamelles annelées, les dictyosomes subissent une évolution identique consistant en un gonflement important. Certaines vésicules contiennent un matériel, qui semble être un précurseur des mélanosomes. Les mitochondries augmentent de taille, perdent leurs grains denses et finissent par s'ouvrir dans le cytoplasme. Les plaquettes vitellines perdent leur membrane périphérique, dans beaucoup de cas.

MODIFICATIONS DE LA ZONA RADIATA ET DU FOLLICULE

Les microvillosités de l'ovocyte se rétractent, se couchent sur le cortex et fusionnent avec le cytoplasme. Par ces discontinuités de la membrane plasmique s'échappent de nombreux grains, qui migrent dans la *zona radiata* jusqu'à proximité des cellules folliculeuses. Pendant que se reconstitue la membrane de l'ovocyte, ces grains sont absorbés par les cellules folliculeuses, soit par les points de rupture formés dans leur membrane par la disparition de leurs microvillosités, soit par des vésicules de pinocytose. Celles-ci sont très abondantes à ce moment, alors qu'on ne les trouvait pratiquement jamais avant l'atrésie. Les cellules folliculeuses avaient dès le départ de ce processus perdu une bonne partie de leurs grains de sécrétion ; à ce moment elles prennent un aspect de cellules jeunes, indifférenciées ; et après absorption des grains venus de l'ovocyte, elles se transforment en cellules phagocytaires qui agressent alors l'ovocyte. Nous pensons que ces grains sont des ribosomes, plutôt que des particules de glycogène B.

MODIFICATIONS DU NOYAU DE L'OVOCYTE

Les nucléoles suivent tous la même évolution, qu'il s'agisse des nucléoles classiques ou de micronucléoles. Leurs divers constituants, fibrillaire et granulaire, se séparent, avant de subir une transformation pycnotique. Les chromosomes se désagrègent, et la membrane nucléaire subit le même sort que le réticulum. Dans certains jeunes ovocytes, il y a fragmentation et transformation des nucléoles en lamelles myéliniques.

LE CORPS ATRETIQUE

Il est surtout intéressant d'y suivre l'évolution des plaquettes vitellines. Quelques unes semblent se fragmenter ou subir une dégénérescence granuleuse. Mais la quasi-totalité se transforme en lamelles myéliniques, au milieu desquelles apparaissent des grains de pigment mélanique.

MECANISME DE L'ATRESIE

Il semble que toutes ces modifications de l'ovocyte soient dues au trouble d'un métabolisme fournisseur d'ATP, que ce trouble survienne après la disparition des grains de sécrétion des cellules folliculeuses (sans doute progestérone). C'est la chute du taux de la FSH hypophysaire qui serait la cause de cette disparition des grains de sécrétion. Les cellules folliculeuses retrouveraient leur aspect primitif de cellules mésenchymateuses, et deviendraient des macrophages à la suite seulement des troubles se produisant dans l'ovocyte ; les ribosomes émis par l'ovocyte jouent peut-être un rôle dans ce phénomène.

BIBLIOGRAPHIE

- ADAMS A.S. (1950) - Sexual conditions in *Triturus viridescens*. V - The effect of administration of diethylstilbestrol on adult normal and castrated females. J. Exp. Zool., 113, p. 463-487
- AFZELIUS B.A. (1955) - The ultrastructure of the nuclear membrane of the sea urchin oocyte as studied with the electron microscope. Expl. Cell Res., 8, p. 147-158.
- AFZELIUS B.A. (1956) - Electron microscopy of Golgi elements in sea urchin eggs. Expl. Cell Res., 11, p. 67-85
- AJZENSHTADT T.B. et DETTLAFF T.A. (1958) - Ultrastructure des oocytes de Grenouilles en période de maturation. Cytologia, 10, p. 789-797.
- ALEXANDER S.S. et BELLERBY C.W. (1938) - Experimental studies on the sexual cycle of the South Africa clawed Toad (*Xenopus laevis*). J. Exp. Biol., 15, p. 74-81.
- AMOROSO E.C. et MATTHEWS L.H. (1955) - The effect of external stimulation on the breeding-cycle of Birds and Mammals. Brit. Med. Bull., 11, p. 87.
- ANDERSON E. (1964) - A study of differentiating oocytes of the chiton, *Chaetopleura apiculata* (Molluscan, Amphineura) and the maturation of their follicle cells. Am. Zool., 4, p. 425-440.
- ANDERSON E. (1965) - Events associated with differentiating oocytes in two species of Amphineurans (Mollusca) *Mopalia mucosa* and *Choetopleura apiculata*. J. Cell Biol., 27, p. 5 (Abstract).
- ANDERSON E. (1969) - Oogenesis in the cockroach, *Periplaneta americana* with special reference to the specialization of the oolemma and the fate of coated vesicles. J. Microscopie, 8, p. 721-738.
- ANDRE J. et ROUILLER C. (1957) - The ultrastructure of the vitelline body in the oocyte of the spider *Tegenaria parietina*. J. Bioph. Bioch. Cytol., 3, p. 977-984.

- AVEL M. (1923) - Sur l'évolution du chondriome au cours des premiers stades de la vitellogenèse chez la Grenouille rousse.
C.R. Soc. Biol., 89, p. 1 319-1 321.
- BALINSKY B.I. et DEVIS R.J. (1963) - Origin and differentiation of cytoplasmic structures in the oocytes of *Xenopus laevis*.
Acta Embryol. Morph. Exp., 6, p. 55-108
- BALTUS E. et HANOCQ-QUERTIER J. (1969) - Présence de DNA dans les plaquettes vitellines des oocytes de *Xenopus laevis*.
Arch. Intern. Physiol. Bioch. Belg., 77, p. 368-369.
- BARER R., JOSEPH S. et MEEK G.A. (1960) - The origin and fate of the nuclear membrane in meiosis.
Proc. Roy. Soc. London B, 152, p. 353.
- BEAMS H.W. et KESSEL R.G. (1963) - Electron microscope studies on developing crayfish oocytes with special reference to the origin of yolk.
J. Cell Biol., 18, p. 621-649.
- BEAMS H.W. et KESSEL R.G. (1969) - Synthesis and deposition of oocyte envelopes (vitelline membrane, chorion) and the uptake of yolk in the dragonfly (Odonata, Aeschinidae).
J. Cell Sci., 4, p. 241-264.
- DE BEAUMONT J. (1929) - Les caractères sexuels du Triton et leur déterminisme, masculinisation et féminisation.
Arch. Biol., 39, p. 175.
- BELLERBY C.W. (1938) - Experimental studies on the sexual cycle of the South African clawed Toad (*Xenopus laevis*). II.
J. Exp. Biol., 15, p. 82-90.
- BELLERBY C.W. et HOGGEN L. (1938) - Experimental studies on the sexual cycle of the South African clawed Toad (*Xenopus laevis*). III.
J. Exp. Biol., 15, p. 91-100.
- BERGERON M. et DROZ B. (1969) - Protein renewal in mitochondria as revealed by electron microscope radioautography.
J. Ultrastruct. Res., 26, p. 17-30.

- BERNHARD W., FRAISSYNET C., LAFARGE C. et LEBRETON E. (1965)
Lésions nucléolaires précoces provoquées par l'aflatoxine dans les cellules hépatiques du Rat.
C.R. Acad. Sci., 261, p. 1 785-1 788.
- BERNHARD W. et GRANBOULAN N. (1968) - Electron microscopy of the nucleolus in Vertebrate cells.
In "The Nucleus" A.J. DALTON et F. HAGUENAU Ed.
Acad. Press, New-York and London, p. 81-150.
- BIALASEWICZ et MINC (1921) - Sur le métabolisme des principes gras et azotés dans les premiers stades du développement de la Grenouille.
Soc. Varsovie Trav. Lab. Phys. Inst. Nencki, I, p. 1
- BOLOGNARI A. (1960) - Yolk formation in oocytes of *Patella coerulea* and *Aplysia depilans* as observed in the electron microscope.
Nature, Lond., 186, p. 490-491.
- BOTTE V. et COTTINO E. (1964) - In Kessel et Panje (1968).
Bol. Zool., 31, p. 91.
- BRACHET J. (1934) - Etude du métabolisme de l'oeuf de Grenouille (*Rana fusca*) au cours du développement.
Arch. Biol., 45, p. 611-727.
- BRACHET J. (1940) - La localisation de l'acide thymonucléique pendant l'ovogenèse et la maturation chez les Amphibiens.
Arch. Biol., 51, p. 151-165.
- BRACHET J. (1942) - La répartition de quelques ferments (arginase, ribonucléase, phosphatase) entre le noyau et le cytoplasme de l'ovocyte.
Acta Biol. Belg., 2, p. 13-16.
- BRACHET J. (1947) - Localisation de l'ARN et des protéines dans l'ovaire de Grenouille normal et centrifugé.
Experientia, 3, p. 329.
- BRACHET J. (1960) - "The Biochemistry of Development" Pergamon, New-York.

- BRACHET J. (1967) - Effects of actinomycin, puromycin and cycloheximide upon the maturation of Amphibian oocytes.
Expl. Cell Res., 48, p. 233-236.
- BRACHET J. (1969) - Acides nucléiques et différenciation embryonnaire.
Ann. Embryol. Morph., Suppl. I, p. 21-37.
- BRACHET J. et FICQ A. (1965) - Binding sites of C14-actinomycin in Amphibian oocytes and autoradiography technique for the detection of cytoplasmic D.N.A.
Expl. Cell Res., 38, p. 153-159.
- BRACHET J. et QUERTIER J. (1963) - Cytochemical detection of cytoplasmic desoxyribonucleic acid (D.N.A.) in Amphibian oocytes.
Expl. Cell Res., 32, p. 410-413.
- BRAGDON D.E. (1952) - Corpus luteum formation and follicular atresia in the common Garter Snake, *Thamnophis sirtalis*.
J. Morph., 91, p. 413-446.
- BRAMBELL F.W.R. (1956) - In "Marshall's Physiology of Reproduction" Parkes A.S. Ed., Longmans, Green et Co. London Vol. I, p. 397.
- BRETSCHNEIDER L.H. et DUYVENE DE WIT J.J. (1947) - "Sexual Endocrinology of Non-mammalian Vertebrates" Elsevier, Amsterdam.
- BROWN C.A. (1956) - A cytochemical and electron microscopic study of nucleoli in Amphibian oocytes.
Doct. Dissert. Univ. of Wisconsin.
- BROWN D. et GURDON J. (1964) - Absence of ribosomal R.N.A. synthesis in the anucleolate mutant of *Xenopus laevis*.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 51, p. 139-146.
- BROWN C.A. et RIS H. (1959) - Amphibian oocyte nucleoli.
J. Morph., 104, p. 377-414.
- BULHER A. (1903) - Rückbildung der Eifollikel bei Wirbeltieren. II - Amphibien.
Morph. Jahrb., 31, p. 85-103.

- BURGOS M.H. (1953) - Accion de los estrogenos sobre el testiculo, cuerpo de Bidder y glandulas endocrinas del sapo.
Rev. Soc. Argent. Biol., 29, p. 162.
- BURNS R.K. (1925) - The sex of parabiotic twins in Amphibia .
J. Exp. Zool., 42, p. 31-39.
- BURNS R.K. (1932) - Follicular atresia in the ovaries of hypophysectomised Salamanders in relation to yolk formation.
J. Exp. Zool., 63, p. 309-327.
- BURNS R.K. et BUYSE A. (1932) - The effects of hypophysectomy on the reproductive system of Salamanders.
Anat. Rec., 51, p. 333-359.
- BUSSON-MABILOT S. (1967) - Structure ovarienne de la Lamproie adulte (*Lamprota planeri* Bloch). Cyclostome, Petromyzentidé. II - Les enveloppes de l'ovocyte : cellules folliculaires et stroma ovarien.
J. Microscopie, 6, p. 807-838.
- CALLAN H.G. (1960) - In "New approaches in cell biology"
P.M.B. Ed. Acad. Press N.Y., p. 23-46.
- CALLAN H.G. (1966) - Chromosomes and nucleoli of the Axolotl, *Ambystoma mexicanum*.
J. Cell Science, 1, p. 85-108.
- CALLAN H.G. et TOMLIN S.G. (1950) - Experimental studies on Amphibian oocyte nuclei. I-Investigation of the structure of the nuclear membrane by means of the electron microscope.
Proc. Roy. Soc. B, 137, p. 367-378.
- CALLARD L.P. et LEATHEM J.H. (1966) - In Kessel et Panje (1968).
Gen. Comp. Endocrinol., 7, p. 80.
- CARAFOLI E. et ROSSI C.S. (1969) - Ca binding by mitochondria. First international symposium on cell biology and cytopharmacology. Venise.
- CARNOY J.B. et LEBRUN A. (1897) - La vésicule germinative et les globules polaires chez les Batraciens (Salamandre et Pleurodèle).
La Cellule, 12, p. 191-295.

- CARNOY J.B. et LEBRUN A. (1898) - Les globules polaires des Urodèles (Triton).
La Cellule, 14, p. 113-184.
- CARNOY J.B. et LEBRUN A. (1899) - La vésicule germinative des Anoures (*Alytes*, *Bombinator*, *Bufo*, *Rana*).
La Cellule, 16, p. 303-401.
- CHANG C.Y. et WITSCHI E. (1955) - Independence of adrenal hyperplasia and gonadal masculinization in the experimental androgenital syndrome of Frogs.
Endocrinology, 56, p. 597.
- CHENG T.H. (1932) - The germ cell history of *Rana cantabrigensis* Baird. I - Germ cell origin and gonad formation. II - Sex differentiation and development.
Zeit. Zellforsch., 16, p. 497-596.
- CHEVREMONT M. (1948) - Le système histiocytaire ou réticulo-endothélial.
Biol. Rev., 23, p. 267-293.
- CHEVREMONT M. (1953) - Les potentialités des cellules histiocytaires.
XV^e Cong. Soc. Intern. Chir., Lisbonne, DE SMEDT Ed Bruxelles, p. 277-292.
- CHIQUEOINE A.D. (1960) - The development of the zona pellucida of the mammalian ovum.
Amer. J. Anat., 106, p. 149-169.
- CHRISTENSEN A.K. (1965) - The fine structure of testicular interstitial cells in Guinea Pigs.
J. Cell Biol., 26, p. 911-935.
- CORDIER R. (1953) - L'hypophyse de *Xenopus*, interprétation histophysiologique.
Ann. Soc. Roy. Zool. Belg., 84, p. 5-16
- CRAMER (1848) - Bemerkungen uber das Zellenleben in der Entwicklung des Froscheies.
Arch. Anast. Physiol. Wiss. Med., p. 20.
- CURGY J.I. (1968) - Influence du mode de fixation sur la possibilité d'observer des structures myéliniques dans les hépatocytes d'embryon de Poulet.
J. Microscopie, 7, p. 63-80.

- CURRIE A.R. et WHEATLEY D.N. (1966) - Cilia of a distinctive structure (9+0) in endocrine and other tissues. Postgraduate Med. J., 42, p. 403-408.
- DAVIDSON E.H., ALLFREY V.G. et MIRSKY A.E. (1964) - On the RNA synthesised during the lampbrush phase of Amphibian oogenesis. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 52, p. 501-508.
- DAWID I.B. (1965) - Desoxyribonucleic acid in Amphibian egg. J. Mol. Biol., 12, p. 581-599.
- DENIS H. (1961) - Recherche sur la différenciation protéique au cours du développement des Amphibiens. J. Embryol. Expl. Morph., 9, p. 422-445.
- DETTLAFF T.A. et SKOBLINA M.N. (1969) - The role of germinal vesicle in the process of oocyte maturation in Anura and Acipenseridae. Ann. Embryol. Morph., Suppl. 1, p. 133-151.
- DHAINAULT A. (1968) - Etude par autoradiographie à haute résolution de l'élaboration des mucopolysaccharides acides au cours de l'ovogenèse de *Nereis pelagica*. (Annélide, Polychète). J. Microscopie, 7, p. 1 069-1 074.
- DICK E.G. et DICK A.T. (1970) - The effect of surface of microvilli on the water permeability of single Toad oocyte. J. Cell Sci., 6, p. 451-476.
- DOLLANDER A. (1954) - La structure du cortex de l'oeuf de Triton observée sur coupes fines et ultrafines au microscope ordinaire et au microscope électronique. C.R. Soc. Biol., 148, p. 152-154.
- DOLLANDER A. (1956) - Ultrastructure de la région corticale de l'ovocyte et de l'oeuf fécondé symétrisé chez le Triton. C.R. Soc. Biol., 150, p. 998-1 001.
- DROLLER M.J. et ROTH T.F. (1964) - An electron microscope study of yolk formation during oogenesis in *Lebistes reticulatus* Guppyi. J. Cell Biol., 28, p. 209-232.

- DUBUISSON (1903) - Dégénérescence normale des ovules non pondus.
C.R. Acad. Sci., 136, p. 1 690-1 691.
- DUMONT J.N. (1965) - Some cytologic details of the developing oocytes of the Horseshoe Crab *Limbus polyphemus*.
J. Cell Biol., 27, p. 25 (Abstract).
- EDSTROM J.E. et GALL J.G. (1963) - The base composition of ribonucleic acid in lampbrush chromosomes, nucleoli, nuclear sap and cytoplasm of *Triturus* oocytes.
J. Cell Biol., 19, p. 279-284.
- FAVARD P. et CARASSO N. (1958) - Origine et ultrastructure des plaquettes vitellines de la Planorbe.
Arch. Anat. Micr. Morph. Exp., 47, p. 211-234.
- FAVARD-SERENO C. (1964) - Phénomène de pinocytose au cours de la vitellogenèse protéique chez le Grillon (Orthoptère).
J. Microscopie, 3, p. 323-338.
- FAURE-FREMIET E. et DU VIVIER DE STREEL (1921) - Les constituants chimiques de l'oeuf et leur rôle dans le développement embryonnaire chez la Grenouille rousse.
Bull. Soc. Chim. Biol., 3, p. 476-482.
- FELDBER C.M. (1965) - The effect of the electron opaque pore material on exchange through the nuclear annuli.
J. Cell Biol., 25, p. 43-54.
- FICQ A. (1961) - Métabolisme de l'ovogenèse chez les Amphibiens. Symposium on Germ Cells and Earliest stages of Development.
RANZONI S. Ed., Fondazione BOSELLI A., Milane, p. 121-140.
- FICQ A. (1962) - Le métabolisme de l'ovogenèse étudié par autoradiographie.
Bull. Acad. Sci. Belg., 48, p. 335-343.
- FISCHER I.S. (1932) - Zeit. Mikroskop. Anat. Forsch., 31, p. 425- 520.

- FLIKINGER R.A. et ROUNDS D.E. (1956) - The maternal synthesis of egg yolk proteins as demonstrated by isotopic and serological means.
Bioch. Bioph. Acta., 22, p. 38-42.
- FOOTE C.L. et FOOTE F.M. (1957) - Maintenance of gonads of Frog larvae in organ cultures.
Trans. III. Acad. Sci., 50, p. 243-260.
- FRANCHI L.L. (1960) - Electron microscopy of oocyte-follicle cell relationships in the Rat ovum.
J. Bioph. Bioch. Cytel., 7, p. 397-398.
- FRANK A.L. et CHRISTENSEN A.K. (1968) - Localization of acid phosphatase in lipofuscin granules and possible autophagic vacuoles in interstitial cells of the Guinea Pig testis.
J. Cell Biol., 36, p. 1-13.
- GABAIEVA N.S. (1963) - Arkhiv. Anat. Histol. Embriol., 44, p. 55.
- GALL J.G. (1954) - Lampbrush chromosomes from oocyte nuclei of the Newwt.
J. Morph., 94, p. 283.
- GALL J.G. (1954) - Observations on the nuclear membrane with the electron microscope.
Expl. Cell Res., 7, p. 197-200.
- GALL J.G. (1956a) - Small granules in the Amphibiann oocyte nucleolus and their relationship to RNA.
J. Bioph. Biochem. Cytel. Suppl. 2, p. 393-396.
- GALL J.G. (1956b) - On the submicroscopic structure of chromosomes.
Brookhaven Symp. Biol., 8, p. 17-32.
- GALL J.G. (1958) - Symposium on the chemical basis of development. W.D. Mc EBROY and B. GLASS Ed. The John Hopkins Press, Baltimore.
- GALL J.G. (1959) - Uptake of nucleic acid precursors by oocytes of the Newt (*Triturus viridescens*).
Genetics, 44, p. 512.
- GALL J.G. (1965a) - Techniques for the study of lampbrush chromosomes.
In "Methods in cell physiology". D. PRESCOTT Ed. Acad. Press N.Y. p. 37-60.

- GALL J.G. (1965b) - An octogonal pattern in the nuclear envelope.
J. Cell Biol., 27, p. 121.
- GALL J.G. (1967a) - Octogonal nuclear pores.
J. Cell Biol., 32, p. 391-400.
- GALL J.G. (1967b) - Synthesis of nucléolar DNA in Amphibian oocytes.
J. Cell Biol., 35, 43A.
- GALL J.G. (1968) - Differential synthesis of the genes for ribosomal RNA, during Amphibian oogenesis.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 60, p. 553-560.
- GALL J.G. et CALLAN H.G. (1961) - Patterns of incorporation in Amphibian oocyte nuclei.
Am. Soc. Cell Biol. Abstracts.
- GALL J.G. et CALLAN H.G. (1962) - H3-Uridine incorporation in lampbrush chromosomes.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 48, p. 562-570.
- GALLI-MAININI C. (1951) - Sécrétion de l'oviducte du Crapaud par l'ovaire en ovulation.
C.R. Soc. Biol., 145, p. 131-133.
- GALLIEN L. (1939) - Hypophysectomie et cycle sexuel chez la Grenouille rousse, *Rana temporaria*. L.
C.R. Acad. Sci., 208, p. 766.
- GANION L.R. et KESSEL R.G. (1965) - Autoradiographic studies on oocytes of *Necturus maculosus*.
J. Cell Biol., 27, p. 135 (Abstract).
- GAY H. (1955) - Nucleo-cytoplasmic relations in salivary-gland cells of *Drosophila*.
Proc Nat. Acad. Sci. USA, 41, p. 370.
- GENDRE et CAMBAR (1964) - Observations sur l'ultrastructure des plaquettes vitellines chez la Grenouille agile (*Rana dalmatina* Bon).
C.R. Acad. Sci., 259, p. 2 834-2 837.
- GITLIN G. (1939) - Gravimetric studies of certain organs of *Xenopus laevis* (the South African clawed Toad) under normal and experimental conditions.
S. Afr. J. Med. Sci., 4, p. 41.

- GLAUERT A.M. et GLAUERT R.H. (1958) - Araldite as embedding medium for electron microscopy.
J. Bioph. Bioch. Cytel., 4, p. 191-194.
- GOTTING K.J. (1965) - Die Feinstruktur der Hüllschichten reifenden Oocyten von *Agonus cataphractus*.
Zeit. Zellforsch., 66, p. 405-414.
- GOURANTON J. (1967) - Structure des desmosomes septaux.
J. Microscopie, 6, p. 505-508.
- GRANBOULAN N. et BERNHARD W. (1963) - Cytochimie ultrastructurale. Exploration des structures nucléaires par digestion enzymatique.
C.R. Soc. Biol., 155, p. 1 767-1 779.
- GRANT W.C. et GRANT J.A. (1958) - Water drive studies on hypophysectomized efts of *Diemyctylus viridescens*. Part. I. The role of lactogenic hormone. Biol. Bull. 114, p. 1-9
- GURAYA S.S. (1965) - A histochemical study of follicular atresia in the Snake ovary.
J. Morph., 117, p. 151-170.
- GUYENOT E. et DANON M. (1953) - Chromosomes et ovocytes de Batraciens. Etude cytologique et au microscope électronique.
Rev. Suisse Zool., 60, p. 1-129.
- HACKENBROCK C.R. (1966) - Ultrastructural basis for metabolically linked mechanical activity in mitochondria. I - Reversible ultrastructural changes with change metabolic state in isolated liver mitochondria.
J. Cell Biol., 30, p. 269-297.
- HADEK R. (1965) - The structure of mammalian egg.
Int. Rev. Cytel., 18, p. 29-71.
- HAGGIS A.J. (1966) - Desoxyribonucleic acid in germinal vesicles of oocytes of *Rana pipiens*.
Science N.Y., 154, p. 670-671.
- DE HALLER G. (1959) - Etude des formations nucléaires dans les ovocytes de Batraciens. Cytochimie des protéines et acides nucléiques et examen au microscope électronique.
Rev. Suisse Zool., 66, p. 529-544.

- HANOCQ-QUERTIER J., BALTUS E., FICQ A. et BRACHET J. (1968) - Studies of DNA of *Xenopus laevis* oocytes. J. Embryol. Exp. Morph., 19, p. 273-282.
- HARRISON G.A. (1966) - Some observations on the présence of annulate lamellae in alligator and sea gull adrenal cortical cells. J. Ultrastruct. Res., 14, p. 158.
- HEDIGER H. (1950) - "Wild Animals in Captivity" Butterworth and Co., London.
- HERLANT M. (1954) - Anatomie et physiologie comparée de l'hypophyse dans la série des Vertébrés. Bull. Soc. Zool., 79, p. 256.
- HETT (1923) - Das corpus luteum des Molches (*Triturus vulgaris*). Zeit. Anat. Entw., 68, p. 243-272.
- HIBBARD H. (1927) - Rôle des constituants cytoplasmiques dans la vitellogénèse d'un Amphibien, *Discoglossus pictus*. C.R. Soc. Biol., 97, p. 45.
- HIBBARD H. (1928) - Contribution à l'étude de l'ovogénèse, de la fécondation et de l'histogénèse chez *Discoglossus pictus* Atth. Arch. Biol., 38, p. 251-326.
- HOGBEN L. (1930) - Some remarks on the relation of the pituitary gland to ovulation and skin secretion in *Xenopus laevis*. Trans. Roy. Soc. South Africa., 22, p. 17.
- HOGBEN L., CHARLES E. et SLOME D. (1931) - Studies on the pituitary. VII - The relation of the pituitary gland to calcium metabolism and ovarian function in *Xenopus*. J. Exp. Biol., 8, p. 345-354.
- HONJIN et NAKAMURA (1967) - A refinement of the values of the lattice parameters in the cristal structure of Amphibian fresh yolk platelets by X-ray cristallography. J. Ultrastruct. Res., 20, p. 400-409.
- HOPE J. (1965) - The fine structure of the developing follicle of the Rhesus ovary. J. Ultrastruct. Res., 12, p. 592-610.

- HOPE J., HUMPHRIES A.A. et BOURNE G.H. (1963) - Ultrastructural studies on developing oocyte of the Salamander *Triturus viridescens*. I The relationship between follicle cells and developing oocytes. J. Ultrastruct. Res., 9, p. 302-324.
- HOPE J.H., HUMPHRIES A.A. et BOURNE G.H. (1964) - Ultrastructural studies on developing oocytes of *Triturus viridescens*. The formation of yolk. J. Ultrastruct. Res., 10, p. 549-556.
- HOUDRY J. (1969) - Ultrastructure de l'épithélium intestinal larvaire chez un Amphibien Anoure, *Alytes obstetricans* Laur. Zeit. Zellforsch., 94, p. 574-592.
- HOUSSAY B.A. (1949) - Hypophyseal functions in the Toad *Bufo arenarum* Hensel. Quart. Rev. Biol., 24, p. I
- HSU W.S. (1962) - An electron microscopic study on the origin of yolk in the oocytes of the Ascidian *Boltonia villosa* Simpson. La cellule, 62, p. 147-155.
- HUMEAU C. (1968) - Formations membranaires dans le noyau et le cytoplasme périnucléaire du jeune ovocyte de *Triturus helveticus* Raz. C.R. Soc. Biol., 162, p. 183-184.
- HUMEAU C. et SENTENIN P. (1968a) - Rapports entre les cellules folliculeuses et l'ovocyte en début d'atrésie chez *Triturus helveticus* Raz. C.R. Soc. Biol., 162, p. 2 181-2 184.
- HUMEAU C. et SENTENIN P. (1968b) - Ultrastructure des nucléoles des ovocytes normaux et atrétiques de *Triturus helveticus* Raz. C.R. Ass. Anat., 142, p. 995-1 006.
- HUMEAU C. et SENTENIN P. (1969) - Transfert de ribosomes entre l'ovocyte atrétique et les cellules folliculeuses chez *Triturus helveticus* Raz. J. Microscopie. Colloque de Lausanne.
- HUMEAU C. et TEMPLE D. (1969) - Origine des lamelles annelées dans les ovocytes d'Amphibiens. C.R. Soc. Biol., 163, p. 1 898-1 902.

- HUMPHREY R.R. (1925) - The primordial germ cells of *Hemidactylium* and other Amphibia.
J. Morph. , 41, p. 1-43.
- HUMPHREY R.R. (1931) - Studies on sex reversal in *Ambystoma*
V - The structure of ovaries of *A. tigrinum* sub-
jected for long periods to the influence of a tes-
tis resident in the same animal.
Anat. Rec., 51, p. 135-153.
- IDELMAN S. (1966) - Contribution à la cytophysiologie infra-
structurale de la cortico-surrenale chez le Rat al-
binos.
Thèse, Faculté des Sciences de Paris, Ann. Sc. Nat.,
8, p. 205-362.
- INGRAM D.L. (1962) - In "The ovary" Zuckerman Ed. Vol. I.
p. 247-273.
- ITO S. (1964) - The surface coating of enteric microvilli.
Anat. Rec., 148, p. 294.
- IWAKAWA (1882) - Quart. J. Microscop. Sci., 22, p. 260.
- IZAWA M., ALLFREY V.G. et MIRSKY A.E. (1963) - The relation-
ship between RNA synthesis and loop structure in
lampbrush chromosomes.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 49, p. 544-551.
- JAMIESON J.D. et PALADE D.E. (1968) - Intracellular trans-
port of secretory protein in the pancreatic exocri-
ne cells. III - Dissociation of intracellular trans-
port from protein synthesis.
J. Cell Biol., 39, p. 580-588.
- JEZEQUEL A.M. et BERNHARD W. (1964) - Modifications ultras-
tructurales du pancréas exocrine de Rat sous l'ef-
fet de l'actinomycine D.
J. Microscopie, 3, p. 279-296.
- JONES K.W. (1967) - The induction of paracrystalline thread-
complexes in the nuclei of Amphibian cells by acti-
nomycin and other DNA binding antibiotics.
J. Ultrastruct. Res., 18, p. 71-84.
- JURAND A. (1957) - Rozwoj i roznicowanie gonad u *Xenopus lae-
vis*.
Folia Biol., 5, p. 123-149.

- KARASAKI S. (1963a) - Studies on Amphibian yolk. I - The ultrastructure of the yolk platelet.
J. Cell Biol., 18, p. 33-48.
- KARASAKI S. (1963b) - Studies on Amphibian yolk. V - Electron microscopic observations on the utilization of yolk platelets during embryogenesis.
J. Ultrastruct. Res., 9, p. 225-247.
- KELLY D.E. (1966) - Fine structure of desmosomes, hemidesmosomes, and epidermal layer in developing Newt epidermis.
J. Cell Biol., 28, p. 51-72.
- KEMP N.E. (1953) - Synthesis of yolk in oocytes of *Rana pipiens* after induced ovulation.
J. Morph., 92, p. 487- 505.
- KEMP N.E. (1956a) - Electron microscopy of growing oocytes of *Rana pipiens*.
J. Bioph. Bioch. Cytol., 2, p. 81-296.
- KEMP N.E. (1956b) - Differentiation of the cortical cytoplasm and inclusions in oocytes of the Frog.
Bioch. Cytol., 2, p. 187-191.
- KESSEL R.G. (1963) - Electron microscope studies on the origin of annulate lamellae in oocytes of *Necturus*.
J. Cell Biol., 19, p. 391-413.
- KESSEL R.G. (1965) - Intranuclear and cytoplasmic annulate lamellae in Tunicate oocytes.
J. of Cell Biol., 24, p. 71.
- KESSEL R.G. (1966) - Some observations on the ultrastructure of the oocyte of *Thyone briareus* with special reference to the relationship of the Golgi complex and endoplasmic reticulum in the formation of yolk.
J. Ultrastruct. Res., 16, p. 305-319.
- KESSEL R.G. (1968) - Annulate lamellae.
J. Ultrastruct. Res. Suppl. 10, p. 1-82.
- KESSEL R.G. (1969a) - Fine structure of the pore-annulus complex in the nuclear envelope and annulate lamellae of germ cells.
Zeit. Zellforsch., 94, p. 441-453.

- KESSEL R.G. (1969b) - Cytodifferenciación in the *Rana pipiens* oocytes. I - Association between mitochondria and nucleolus-like bodies in young oocytes.
J. Ultrastruct. Res., 28, p. 61-77.
- KESSEL R.G. (1969c) - The effect of glutaraldehyde fixation on the elucidation of the morphogenesis of annulate lamellae in oocytes of *Rana pipiens*.
Zeit. Zellforsch., 94, p. 454-461.
- KESSEL R.G. et BEAMS H.W. (1963) - Micropinocytosis and yolk formation in oocytes of the small milkweed Bug.
Expl. Cell Res., 30, p. 440-443.
- KESSEL R.G. et KEMP N.E. (1962) - An electron microscope study on the oocyte, tests cells and follicular envelope of the Tunicate *Molgula manhattensis*.
J. Ultrastruct. Res., 6, p. 57-76.
- KESSEL R.G. et PANJE (1968) - Organization and activity in the pre- and post-ovulatory follicle of *Necturus maculosus*.
J. Cell Biol., 39, p. 1-34.
- KING H.D. (1908) - The oogenesis of *Bufo lentiginosus*.
J. Morph., 19, p. 369-438.
- KONOPACKI M. (1924) - Analyse microchimique de la substance périvitelline dans les oeufs de la Grenouille.
C.R. Soc. Biol., 90, p. 593.
- KORSCHOLT E. et HEIDER H. (1902) - "Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der wirbellosen Thiere"
Fischer, Jena.
- LAFONTAINE J.G. et RIS H. (1958) - An electron microscope study of lampbrush chromosomes.
J. Bioph. Bioch. Cytol., 4, p. 99-106.
- LAMS M.H. (1906) - Contribution à la genèse du vitellus dans l'ovule des Amphibiens.
Arch. Anat. Micr., 9, p. 607-639.
- LANE N.J. (1967) - Spheroidal and ring nucleoli in Amphibian oocytes. Patterns of Uridine incorporation and fine structural features.
J. Cell Biol., 35, p. 421-434.

- LANSING A.I., HILLIER J. et ROSENTHAL T.B. (1952) - Electron microscopy of some marine egg inclusions.
Biol. Bull., 103, p. 294 (Abstract).
- LANZAVECCHIA G. (1960a) - The formation of the yolk in frog oocytes.
Proc. Eur. Reg. Conf. on Electr. Micr., 2, p. 746-749.
- LANZAVECCHIA G. (1960b) - L'origine des mitochondries pendant le développement embryonnaire de *Rana esculenta*.
IV Int. Kongr. Elektronenmikr. Berlin, p. 270-273.
- LANZAVECCHIA G. (1961) - The formation of the yolk in Frog oocytes.
Europ. Reg. Conf. Electr. Micr. Delft Proc., 2, p. 746-749.
- LANZAVECCHIA G. (1963) - "From molecule to cell". Symp. Electr. Micr. Modena, BUFFA P. Ed.
- LANZAVECCHIA G. (1965) - Structure and demolition of yolk in *Rana esculenta* L.
J. Ultrastruct. Res., 12, p. 147-159.
- LANZAVECCHIA G. et MANGIONI C. (1963) - Moltiplicazione dei mitocondri in oociti di *Xenopus laevis*.
C.R. Sci. Biol. Med. B, 97, p. 341-365.
- LAPIS K. et BERNHARD W. (1965) - The effect of mitomycin-C on the nucleolar fine structure of KB cells in cell culture.
Cancer Res., 25, p. 628-645.
- LEVI G. (1912) - I condriosomi nell'ovocite degli Anfibi.
Mon. Zool. Ital., 23, p. 149.
- LIEBMAN E. (1945) - The function of leucocytes in the growth and regression of the egg of *Triturus viridescens*.
Am. J. Anat., 77, p. 273-291.
- LISON L. (1960) - Histochimie et cytochimie animales.
3 Ed. GAUTHIER-VILLARS, Paris.
- LUFT J.H. (1956) - J. Bioph. Bioch. Cytol., 2, p. 799.

- Mc CLENDON J.F. (1909) - On the nucleo-albumen in the yolk platelets in the Frog's egg with a note on the black pigment.
Am. J. Physiol., 25, p. 195-198.
- Mc CLENDON J.F. (1915) - On the formation of fats from proteins in the eggs of Fish and Amphibia.
J. Biol. Chem., 21, p. 269.
- Mc GULLOCH D. (1952) - Fibrous structures in the ground cytoplasm of the *Arbacia* egg.
J. Expl. Zool., 119, p. 47.
- Mc GREGOR H.C. (1965) - The role of lampbrush chromosomes in the formation of nucleoli in Amphibian oocytes.
Quart. J. MICR. SCI., 106, p. 215-228.
- Mc GREGOR H.C. (1967) - Pattern of incorporation of H3-uridine into RNA of Amphibian nucleoli.
J. Cell Sci., 2, p. 145-150.
- MAGALHAES M.M. et MAGALHAES M.C. (1968) - Inclusions intramitochondriales à structure cristalline dans la cortico-surrénale du Rat.
J. Microscopie., 7, p. 549-558.
- MAKAROV P.V. (1964) - Study of the nuclear structure of Frog oocytes.
Arkh. Anat., 45, p. 43-61.
- MARCH F. (1937) - Some hormone effects in Amphibia.
Proc. Zool. Soc. Lon., 107, p. 603-655.
- MARINOZZI V. (1963) - The role of fixation in electron staining.
J. Roy. Micr. Soc., 81, p. 141-154.
- MASUI Y. (1967) - Relative role of the pituitary, follicle cells and progesterone in the induction of oocyte maturation in *Rana pipiens*.
J. Exp. Zool., 166, p. 365-376.
- MAUL C.G. (1969) - Golgi-melanosome relationship in human melanoma *in vitro*.
J. Ultrastruct. Res., 26, p. 163-176.
- MAZUROVSKY E.B., BUNGE M.B. et BUNGE R.P. (1967) - Cytological studies of organotypic cultures of Rat dorsal root ganglia following X-irradiation *in vitro*.
I- Changes in neurons and satellite cells.
J. Cell Biol., 32, p. 467-496.

- MAZZI V. et PIERI M (1949) - Ciclo annuo e modificazioni sperimentali della ipofisi nel Tritone cretato.
Riv. Biol., 41, p. 271.
- MENTRE P. (1969) - Présence d'acide ribonucléique dans l'anneau osmiophile et le granule central des pores nucléaires.
J. Microscopie., 8, p. 51-68.
- MILLER O.L. (1962) - Studies on the ultrastructure and metabolism of nucleoli in Amphibian oocyte.
5è Intern. Cong. El. Micr. Philadelphia. London Acad. Press.
- MILLER O.L. (1964) - Extrachromosomal nucleolar DNA in Amphibian oocytes.
J. Cell Biol., 23, 60 A.
- MILLER O.L. (1965) - A membranous component in Amphibian oocyte nucleoli.
J. Cell Biol., 27, p. 66.
- MILLER O.L. (1966) - Structure and composition of peripheral nucleoli of Salamander oocytes.
Natl. Can. Inst. Monograp., 23, p. 53-66.
- MILLER O.L. (1967) - Observation on isolated components of Amphibian oocyte nucleoli.
J. Cell Biol., 35, 94 A.
- MILLER M.R. et ROBBINS M.E. (1955) - Cyclic changes in the pituitary gland of the Urodele Amphibian, *Taricha torosa* (*Triturus torosus*).
Anat. Rec., 122, p. 105.
- MONNERON A. et BERNHARD W. (1966) - Action de certains enzymes sur des tissus inclus en epon.
J. Microscopie, 5, p. 697-714.
- MORGENTHALER (1950) - Zytologische und histochemische Untersuchungen au diploiden und haploiden Keimen von Triton alpestris.
Rev. Suisse Zool., 58, p. 571-604.
- MULINOS M.G., POMERANTZ L., SMELSER J. et KURZROCK R. (1939) - Estrus inhibiting effects of inanition.
Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y., 40, p. 79-83.

- MULLER H. et STERBA G. (1963) - Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Bildung Und Struktur der Eihüllen bei Knochenfischen. II - Die Eihüllen jangeren und alteren Oozyten von *Cynolebias belotti* Steindachmer (*Cyprinodon tidae*).
Zool. Zahr. Arb. Anat Ontog., 80, p. 469-488.
- NAPOLITANO L. (1963) - Cytolysomes in metabolically active cells.
J. Cell Biol., 18, p. 478-481.
- NATH (1931) - A demonstration of the vacuome and the Golgi apparatus as independent cytoplasmic components in the fresh eggs of the Frog.
Zeit. Zellforsch., 13, p. 82.
- NEEDHAM (1931) - "Chemical Embryology", Vol. II.
- NIEUKOOP P.D. (1947) - Experimental investigations on the origin and determination of the germ cells, and on the development of lateral plates and germ ridges in Urodeles.
Arch. Néerl. Zool., 8, p. 1-205.
- NOVIKOFF A.B. et ESSNER E. (1962) - Cytolysomes and mitochondrial degeneration.
J. Cell Biol., 15, p. 140-146.
- NOVIKOFF A.B. et SHIN W.Y. (1964) - The endoplasmic reticulum in the Golgi zone and its relations to microbodies, Golgi apparatus and autophagic vacuoles in Rat liver cells.
J. Microscopie, 3, p. 187-206.
- ODOR D.L. (1960) - Electron microscopic studies on ovarian oocytes and fertilized tubal ova in the Rat.
J. Bioph. Bioch. Cytol., 7, p. 567-574.
- OKADA E. et WADDINGTON C.H. (1959) - The submicroscopic structure of *Drosophila* egg.
J. Embryol. Exp. Morph., 7, p. 583-597.
- PALADE G.E. (1955) - Studies on the endoplasmic reticulum. II - Simple disposition in cells in situ.
J. Bioph. Bioch. Cytol., 1, p. 567-582.

- PANIGEL M. (1961) - Etude anatomo-histologique des corps atrétiques pendant la gestation chez le Lézard *Zootoca vivipara*. W. (*Lacerta vivipara* J.)
Bull. Soc. Zool. Fr., 76, p. 75-78.
- PANIJEL J. (1950) - L'organisation du vitellus dans les oeufs d'Amphibiens.
Bioch. Bioph. Acta., 5, p. 343-357.
- PANJE et KESSEL (1968) - Soluble proteins and quantitative analysis of proteins and RNA during oogenesis in *Necturus maculosus*.
Expl. Cell Res., 51, p. 313-332.
- PEARSE A.G.E. (1960) - Histochemistry, Theoretical and Applied.
2 Ed. Little Brown, Boston.
- PENHOS J.C. et CARDEZA A.F. (1952) - Les glandes endocrines du Crapaud hypophysoprivé alimenté.
C.R. Soc. Biol., 146, p. 132-133.
- PEREZ (1903) - Sur la résorption phagocytaire des ovules chez les Tritons.
Ann. Inst. Past., 17, p. 617-630.
- PICHERAL B. (1968) - Les tissus élaborateurs d'hormones stéroïdes chez les Amphibiens Urodèles. I - Ultrastructure des cellules du tissu glandulaire du testicule de *Pleurodeles Waltlii* Michah.
J. Microscopie, 7, p. 115-134.
- PICKFORD G.E. et ATZ J.W. (1957) - "The physiology of the pituitary gland of Fishes".
Zoological Society, N.Y.
- PORTE A. et ZAHND J.P. (1962) - C.R. Acad. Sci., 156, p. 912-914.
- REAGAN J.W. (1950) - Ceroid pigment in the human ovary.
Am. J. Obstet. Gynec., 59, p. 443-436.
- REBHUN L.I. (1956) - Electron microscopy of basophilic structures in some Invertebrates oocytes. I - Periodic lamellae and the nuclear envelope.
J. Bioph. Bioch. Cytel., 2, p. 23-104.

- REBHUN L.I. (1962) - Electron microscope studies on the vitelline membrane of the Surfclam, *Spisula solidissima*.
J. Ultrastruct. Res., 6, p. 107-122.
- RECOURT A. (1961) - Elektronenmicroscopisch onderzoek naar de oogenèse dij *Limnea stagnalis*.
Thèse Utrecht.
- RETZIUS G. (1889) - Die Interzellularbrücken des Eierstockes und der Follikelzellen, sowie die Entwicklung der *Zona pellucida*.
Verh. Anat. Ges. p. 10-12.
- REYNOLDS E.S. (1963) - The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy.
J. Cell Biol., 17, p. 208-211.
- REYNOLDS E.S. (1965) - Liver parenchymal cell injury. III - The Nature of calcium-associated electron-opaque masses in Rat liver mitochondria following poisoning with carbone tetrachloride.
J. Cell Biol., 25, p. 53-75.
- REYNOLDS R.C., MONTGOMERY P., et KARNEY D. (1963) - Nucleolar "caps", a morphologic entity produced by the carcinogen 4-nitroquinolin N-oxide.
Cancer Res., 23, p. 535-538.
- RINGLE D.A. et GROSS P.R. (1962) - Organization and composition of Amphibian yolk platelet. I - Investigation on the organization of the platelet.
Biol. Bull., 122, p. 263-280.
- ROLLER A. (1963) - Etude de l'acide désoxyribonucléique des oeufs de Batraciens : teneur et localisation.
Arch. Inter. Physiol. Bioch. Belg., 71, p. 139-140.
- ROSENBAUM R.M. (1958) - Histochemical observations on the cortical region of the oocytes of *Rana pipiens*.
Quart. J. Micr. Sci., 99, p. 159-169.
- RUGH R. (1935) - Ovulation in the Frog. II - Follicular rupture to fertilization.
J. Exp. Zool., 71, p. 163.
- RUNNSTROM J. (1966) - The vitelline membrane and cortical particles in sea urchin eggs and their function in maturation and fertilization.
Advances in Morph., 5, p. 221-325.

- RUTHMAN A. (1958) - Basophilic lamellar systems in the Crayfish spermatocyte'.
J. Bioph. Bioch. Cytol. 4, p. 267-274.
- SABATINI D.D., BENSCH K.G. et BARNETT R.J. (1963) - Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation.
J. Cell Biol., 17, p. 19-58.
- SAVAGE H.M. (1935) - The ecology of young tadpoles with special reference to some adaptations to the habit of mass-spawning in *Rana temporaria*.
Proc. Zool. Soc. Lond., 101, p. 605.
- SCHEER U. et FRANKE W. (1969) - Negative staining and adenosine triphosphatase activity of annulate lamellae of Newt oocytes.
J. Cell Biol., 42, p. 519-533.
- SCHULTZ O. (1887) - Z. Wiss. Zool., 45, p. 177.
- SELMAN G.G. et PAWSEY G.J. (1965) - The utilization of yolk platelets by tissues of *Xenopus* embryos studied by a safranin staining method.
J. Embryol. Exp. Morph., 14, p. 191-212.
- SENTEIN P. (1960) - Les formations chromatoides riches en polysaccharides dans l'oeuf de Batraciens en segmentation.
C.R. Soc. Biol., 154, p. 1 483-1 485.
- SENTEIN P. et HUMEAU C. (1966) - Contribution à l'étude des lamelles annelées de l'ovocyte de *Triturus helveticus* Raz.
Bull. Soc. Zool. France, 3, p. 407-411.
- SENTEIN P. et HUMEAU C. (1968) - Origine mitochondriale du vitellus dans l'ovocyte de *Triturus helveticus* Raz.
C.R. Acad. Sci., 267, p. 753-754.
- SENTEIN P., HUMEAU C. et GABRION J. (1970) - La vitellogenèse chez *Triturus helveticus* Raz. Etude ultrastructurale.
C.R. Ass. Anat. (sous presse).

- SHAPIRO B.G. et SHAPIRO H.A. (1934) - Histological changes in the ovaries and ovarian blood vessels of *Xenopus laevis* associated with hypophysectomy, captivity and the normal reproductive cycle. J. Exp. Biol., II, p. 73-81.
- SHINOZUKA H., GOLDBLATT P.J. et BARBER E. (1968) - The de-sorganization of hepatic cell nucleoli by ethionine and its reversal by adenine. J. Cell Biol., 36, p. 313-328.
- SMITH C.L. (1955) - Reproduction in female Amphibia. Mem. Soc. Endocrin., 4, p. 39-55.
- SRIVASTAVA M.D.L. et BHATNAGAR A.N. (1962) - Lampbrush chromosomes of *Rana cyanophlyctis*. Cytologia, 27, p. 60-71.
- STAHL A. et LERAY C. (1961) - L'ovogenèse chez les Poissons Téléostéens. I - Origine et signification de la *Zona radiata* et de ses annexes. Arch. Anat. Micr., 50, p. 251-268.
- STEVENS B.J. et SWIFT H. (1966) - RNA transport from nucleus to cytoplasm in *Chironomus* salivary gland. J. Cell Biol., 31, p. 55-77.
- STIEVE (1901) - Über den Einfluss der Umwelt auf die Eiertöcke der Tritonen. Arch. Entw. Organ., 49, p. 179-267.
- SWIFT H. (1956) - The fine structure of annulate lamellae. J. Bioph. Bioch. Cytol., 2, p. 415-418.
- SWIFT H. (1962) - Nucleoprotein localization in electron micrographs. In "Interpretation of ultrastructure" Symp. Intern. Soc. Cell Biol. R.J. HARRIS Ed., Acad. Presse New York, 1, p. 213-232.
- SWIFT H. (1963) - Cytochemical studies on nuclear fine structure. Expl. Cell Res., Suppl., 9, p. 54-67.
- TAHMISIAN T.N. (1964) - J. Ultrastr. Res., 10, p. 182.

- TELFER (1961) - The route of entry and localization of blood proteins in the oocytes of saturniid moths.
J. Bioph. Bioch. Cytol., 9, p. 747-759.
- THOMAS C. (1969) - Etude cytochimique au microscope électronique des structures à ARN et du glycogène dans le cytoplasme des ovocytes de *Xenopus laevis*.
J. Embryol. Exp. Morph., 21, p. 165-176.
- THOMSON A. (1859) - Ovum in "Todd's Cyclopedia" Vol. 5.
- TOKIN E.B. et GABAIEVA (1963) - J. Leningrad Univ., 15, p. 158.
- TOMLIN S.G. et GALLAN H.G. (1951) - Quart. J. Micr. Sci., 92, p. 221.
- TRUJILLO-CENOZ O. et SOTELO J.R. (1959) - Relationship of the ovular surface with follicle cells and origin of the zona pellucida in Rabbit oocytes.
J. Bioph. Bioch. Cytol., 5, p. 347-350.
- TUCHMANN-DUPLESSIS H. (1945) - Corrélations hypophysoendocrines chez le Triton. Déterminisme hormonal des caractères sexuels secondaires.
Act. Sci. Indust. N° 987. Hermann et Cie. Paris.
- VAN GANSEN P. et SCHRAM A. (1968) - Ultrastructure et cytochimie ultrastructurale de la vésicule germinative et du cytoplasme périnucléaire dans l'ovocyte mûr de *Xenopus laevis*.
J. Embryol. Exp. Morph., 20, p. 375-389.
- VON BUDDENBROCK W. (1950) - "Vergleichende Physiologie", Vol. IV, Bir kauser, Basel.

- WADE R. et JONES H.W. (1956) - Effect of progesterone on mitochondrial adenosine triphosphatase.
J. Biol. Chem., 220, p. 547-552.
- WALDEYER W. (1870) - "Eierstock und Ei" Engelmann, Leipzig.
- WALDEYER W. (1906) - In "Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungslehre der Wirbelthiers".
O. Hertwig Ed. Vol. 1, p. 86-476. Fischer, Jena.
- WALLACE R.A. (1963) - Studies on Amphibian yolk. IV - An analysis of the main body component of yolk platelets.
Bioch. Bioph. Acta, 74, p. 505-518.
- WALLACE R.A. et DUMONT J.N. (1968) - The induced synthesis and transport of yolk protein and their accumulation by oocyte (*Xenopus laevis*).
J. Cell Physiol., 72, p. 73-89.
- WALLACE R.A. et JARED D.W. (1969) - Studies on Amphibian yolk. VIII - The oestrogen induced hepatic synthesis of serum lipophospho-protein and its selective uptake by the ovary and transformation into yolk platelets proteins in *Xenopus laevis*.
Dev. Biol., 19, p. 498-526.
- WARD R.T. (1962) - The origin of protein and fatty yolk in *Rana pipiens*. II - Electron microscopical and cytochemical observations of young and mature oocytes.
J. Cell Biol., 14, p. 309-341.
- WARD R.T. (1965) - Formation of Golgi bodies during maturation growing oocytes in *Rana pipiens*.
Anat. Rec., 151, p. 430. (Abstract).
- WARD R.T. et WARD E. (1968) - The origin and growth of cortical granules in the oocytes of *Rana pipiens*.
J. Microscopy, 7, p. 1021-1030.
- WARTENBERG H. (1956) - Topochemische Untersuchungen an den Ovarialeiern von *Xenopus laevis* und *Rana fusca*.
Acta Histochem., 4, p. 25-71.
- WARTENBERG H. (1962) - Elektronenmikroskopische und histochemische Studien über die Oogenese der Amphibieneizelle.
Zeit. Zellforsch., 58, p. 427-486.

- WARTENBERG H. et SCHMIDDT W. (1961) -Elektronenmikroskopische untersuchungen der strukturellen veränderungen im rindenbereich des Amphibieneies im ovar und nach der befruchtung.
Zeit. Zellforsch., 54, p. 118-146.
- WARTENBERG H. et STEGNER (1960) - Über die elektronen - mikroskopische Feinstruktur des menschlichen Ovarie-
leis.
Zeit. Zellforsch., 52, p. 450-474.
- WHETZELL W.O. et BUNGE R.P. (1969) - Reversible alterations in the Golgi complex of cultured neurons treated with an inhibitor of active Na and K transport.
J. Cell Biol., 42, p. 490-500.
- WISCHNITZER S. (1958) - An electronmicroscope study of the nuclear enveloppe of Amphibian oocytes.
J. Ultrastruct. Res., 1, p. 201-222.
- WISCHNITZER S. (1959) - Three dimensional visualization of the nuclear membrane in Vertebrates oocytes.
Cytologia, 24, p. 478-486.
- WISCHNITZER S. (1960a) - The ultrastructure of the nucleus and nucleocytoplasmic relations.
Int. Rev. Cytol., 10, p. 137-162.
- WISCHNITZER S. (1960b) - Observations on the annulate lamellae of immature Amphibian oocytes.
J. Bioph. Bioch. Cytol., 8, p. 558-563.
- WISCHNITZER S. (1963a) - Vesicle formation from the nuclear enveloppe in Amphibian oocytes.
Chromosoma, 13, p. 600-608.
- WISCHNITZER S. (1963b) - The ultrastructure of the layers enveloping yolk forming oocytes from *Triturus viridescens*.
Zeit. Zellforsch., 60, p. 452-462.
- WISCHNITZER S. (1964a) - In Wischnitzer 1966.
J. Ultrastruct. Res., 10, p. 14-26.
- WISCHNITZER S. (1964b) - An electron study of the formation of the zona pellucida in oocytes from *Triturus viridescens*.
Zeit. Zellforsch., 64, p. 196-209.

- WISCHNITZER S. (1966) - The ultrastructure of the cytoplasm of the developing Amphibian egg.
Advances in Morphogenesis, 5, p. 131-179.
- WISCHNITZER S. (1967) - The ultrastructure of the nucleus of the developing Amphibian egg.
Advances in Morphogenesis, 6, p. 173-198.
- WITSCHI E. (1951) - Embryogenesis of the adrenal and the reproductive glands.
Rec. Prog. Hormone Res., 6, p. 6-27.
- WITTEK M. (1952) - La vitellogenèse chez les Amphibiens.
Arch. Biol., 63, p. 133-197.
- WOODS M.W. et HUNTER J.C. (1959) - In "Pigment Cell Biology", GORDON M. Ed., Acad. Press, New York, p. 455.
- WORLEY L.G. et MORIBER L.G. (1961) - The origin of protein yolk from the Golgi apparatus in Gastropods.
Trans. N.Y. Acad. Sci., 23, p. 352-356.
- WRIGHT P.A. (1950) - Time relationships in frog ovulation.
J. Expl. Zool., 114, p. 465.
- WRIGHT P.A. et HISAW F.L. (1946) - Effect of mammalian pituitary gonadotrophins on ovulation in the Frog, *Rana pipiens*.
Endocrinology, 39, p. 247.
- ZAHL P.A. (1935) - Cytological changes in Frog pituitary considered in reference to sexual periodicity.
Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y., 33, p. 56.
- ZAHL P.A. (1937) - Cytologische Untersuchungen über die Hypophysis cerebri des weiblichen Frosches.
Zeit. Mikr. Anat. Forsch., 42, p. 303-361.
- ZUBER-VOGELLI M. (1953) - L'histophysiologie de l'hypophyse de *Bufo vulgaris* L.
Arch. Anat. Strasbourg, 35, p. 77-180.

ABREVIATIONS UTILISEES

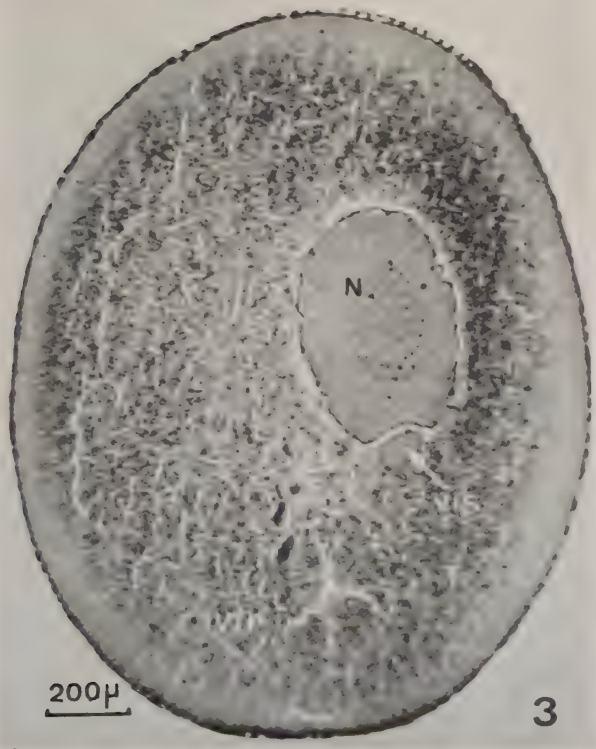
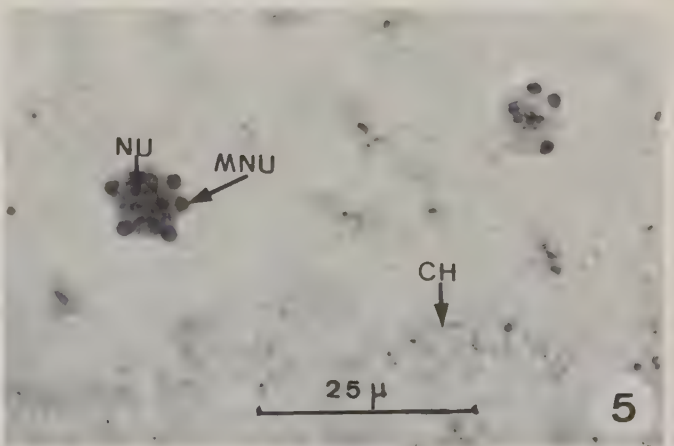
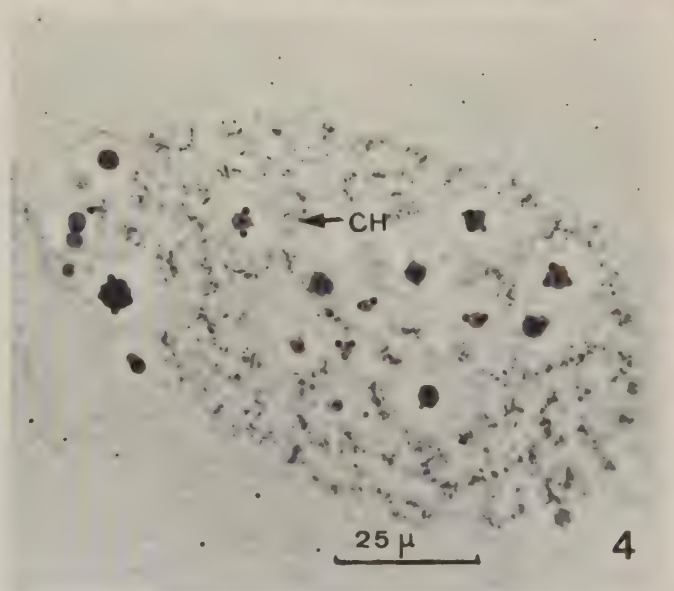
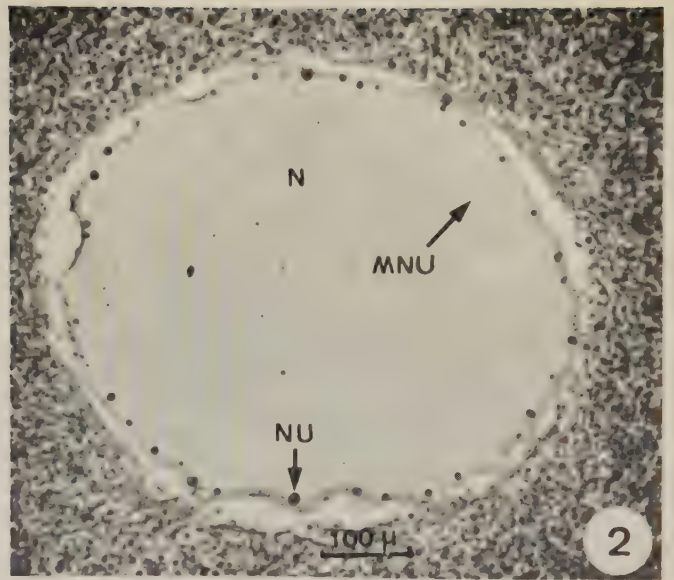
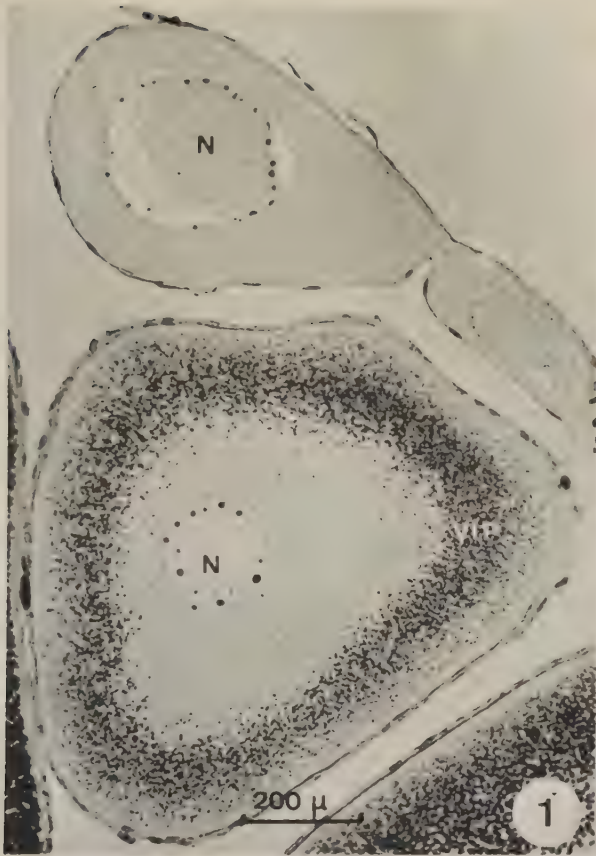
B	: bifurcations des lamelles annelées	MT	: microtubules
C	: cytoplasme	MVF	: microvillosités du follicule
CA	: capillaires	MVO	: microvillosités de l'ovocyte
CD	: ciment dense	MY	: membranes myéliniques
CE	: couche externe	N	: noyau
CF	: cellules folliculeuses	NC	: noyau paracrystallin
CH	: chromosomes	NU	: nucléoles
CI	: couche interne	O	: ovocyte
CIM	: ciment intermitochondrial	P	: pore
CL	: cils	PA	: parasite
CO	: collagène	PH	: cellule phagocytaire
D	: dictyosomes	PM	: pigment mélanique
DS	: desmosomes	R	: ribosomes
EN	: émissions nucléaires	RC	: réseau paracrystallin
ES	: épithélium de surface	RE	: réticulum endoplasmique
F	: fibrilles	REL	: réticulum endoplasmique lisse
G	: granules	RER	: réticulum endoplasmique rugueux
GD	: grains denses	SF	: substance fondamentale
GP	: grains périchromatiniens	T	: thèque
L	: lipochondries	V	: vacuoles
LA	: lamelles annelées	VE	: vésicules
LEU	: leucocytes	VG	: vésicules golgiennes
LY	: lysosomes	VI	: vitellus
M	: mitochondries	VIP	: vitellus primaire
MB	: membrane basale	VIS	: vitellus secondaire
MF	: microfilaments	VP	: vésicules de pinocytose
MN	: membrane nucléaire	ZG	: zone granuleuse
MNU	: micronucléoles	ZR	: zona radiata
MP	: membrane périphérique		

PLANCHES HORS - TEXTE

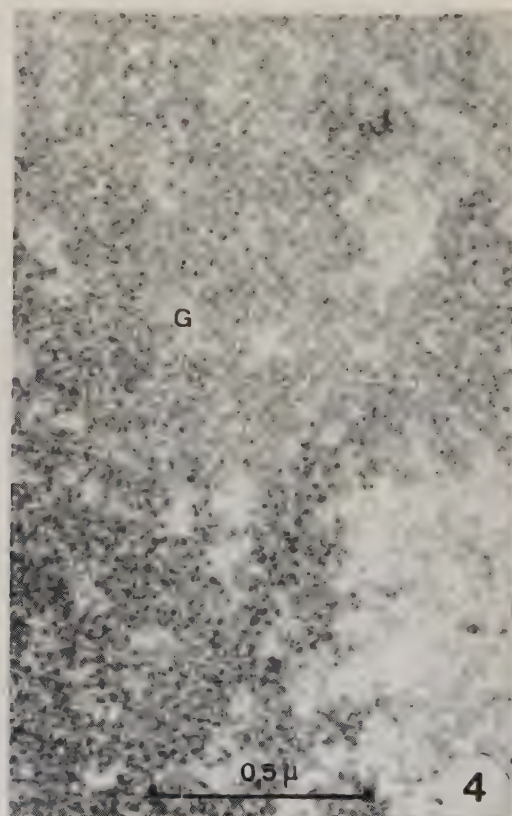
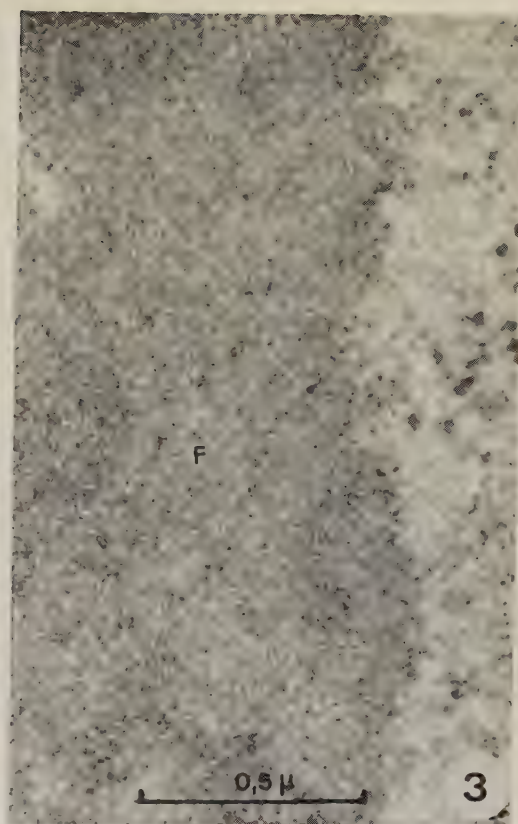
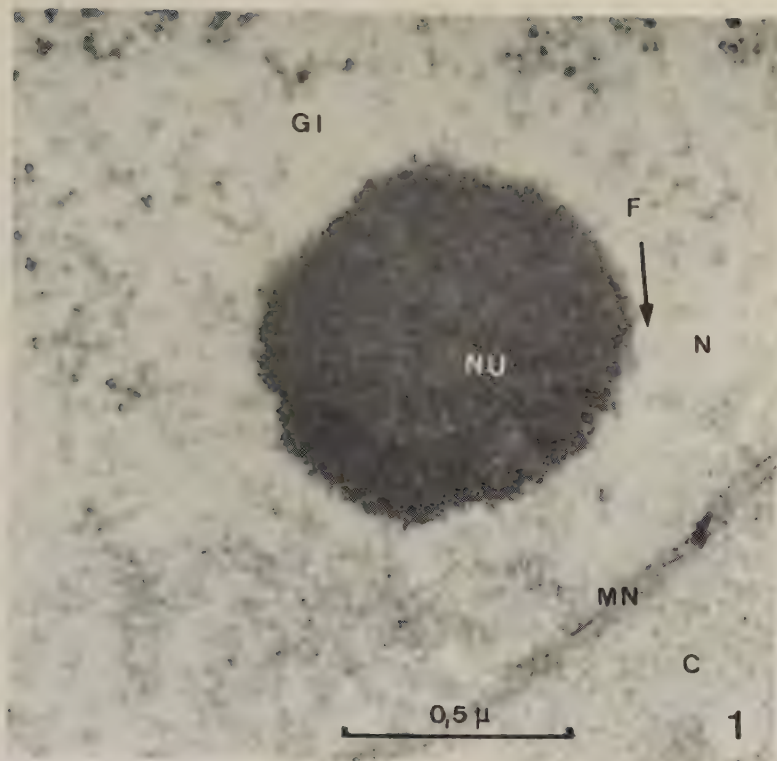
PLANCHES I A XXII : L'OVOGENESE

- Planche I : L'ovogenèse en microscopie optique
- Planches II à V : Le noyau
- Planches VI à IX : Les lamelles annelées
- Planches X à XV : La vitellogenèse
- Planches XVI à XX : Les enveloppes de l'ovocyte
- Planches XXI et XXII : Organites énigmatiques

- Fig. 1 : Deux jeunes ovocytes non vitellins et un ovocyte de 600 μ diamètre dont la vitellogenèse primaire (centripète) est entamée. Noyau avec nucléoles périphériques (Flemming) (X 80).
- Fig. 2 : Noyau d'un ovocyte de 900 μ , contenant des nucléoles périphériques et des micronucléoles. (Safranine - Bleu de Méthyle - Orange G) (X 125).
- Fig. 3 : Ovocyte en fin d'ovogenèse : vitellogenèse primaire complète ; ilôt de vitellogenèse secondaire près du noyau ; nucléoles dans la région centrale du noyau (Safranine - Bleu de Méthyle , Orange G) (X 50).
- Fig. 4 : Noyau du même ovocyte montrant les nucléoles et des fragments de chromosomes plumeux (Safranine - Bleu de Méthyle - Orange G) (X 800).
- Fig. 5 : Fort grossissement de la même région montrant l'association des nucléoles classiques et des micronucléoles (X 1 200).



- Fig. 1 : Nucléole à la périphérie du noyau d'un jeune ovocyte (150 μ), constitué de substance fibrillaire uniquement et entouré d'une auréole claire. Matériel spumeux entre le nucléole et la membrane nucléaire. Pores nucléaires peu nombreux (X 60 000).
- Fig. 2 : Nucléole à la périphérie du noyau d'un ovocyte de 500 μ constitué de matériel fibrillaire et granulaire. Pores nucléaires très nombreux (X 22000).
- Fig. 3 : Fort grossissement de la partie fibrillaire du même nucléole (X 60 000).
- Fig. 4 : Fort grossissement de la partie granulaire du même nucléole (X 60 000).



- Fig. 1 : Portion fibrillaire entourée de granules à la périphérie d'un nucléole dans un ovocyte vitellin. Grains péricromatiniens de 400 Å entre la membrane nucléaire et le nucléole (X 35 000).
- Fig. 2 : Image identique montrant une protubérance constituée surtout de matériel fibrillaire entourée de grains de 400 Å (X 35 000).
- Fig. 3 : Une de ces protubérances semble s'être détachée du nucléole (X 60 000).
- Fig. 4 : Micronucléole constitué de matériel fibrillaire et granulaire normal et de grains de 400 Å (X 35 000).

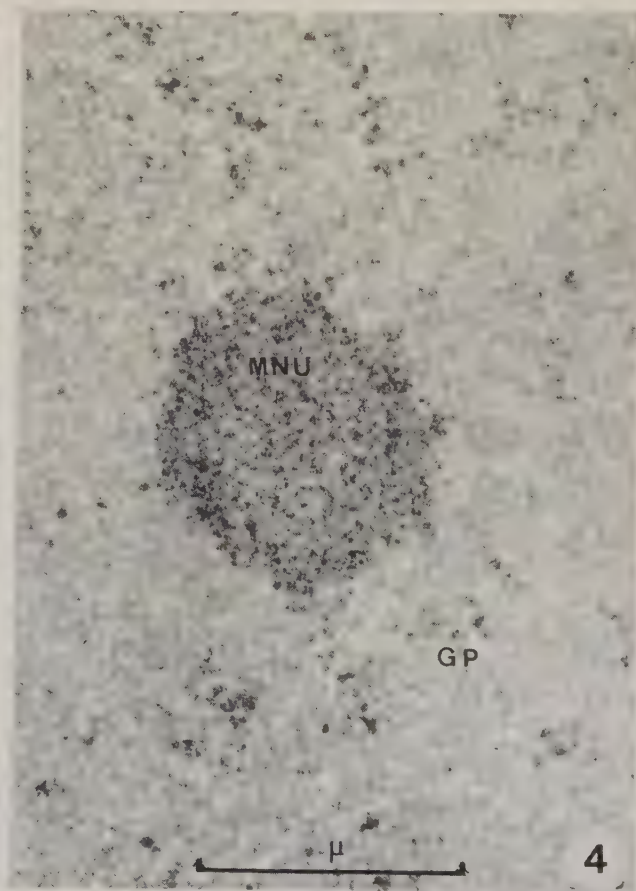
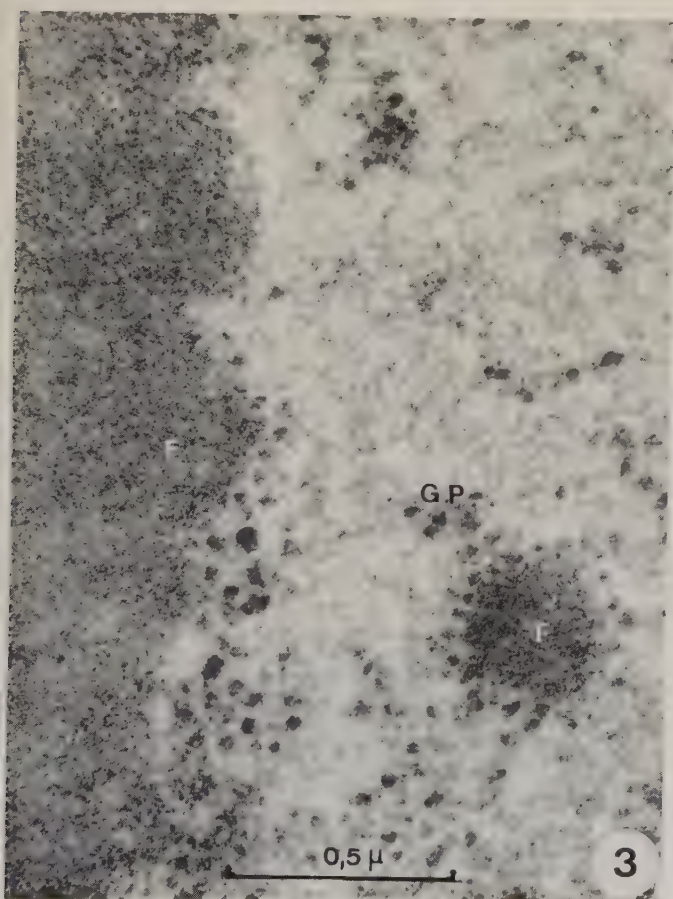
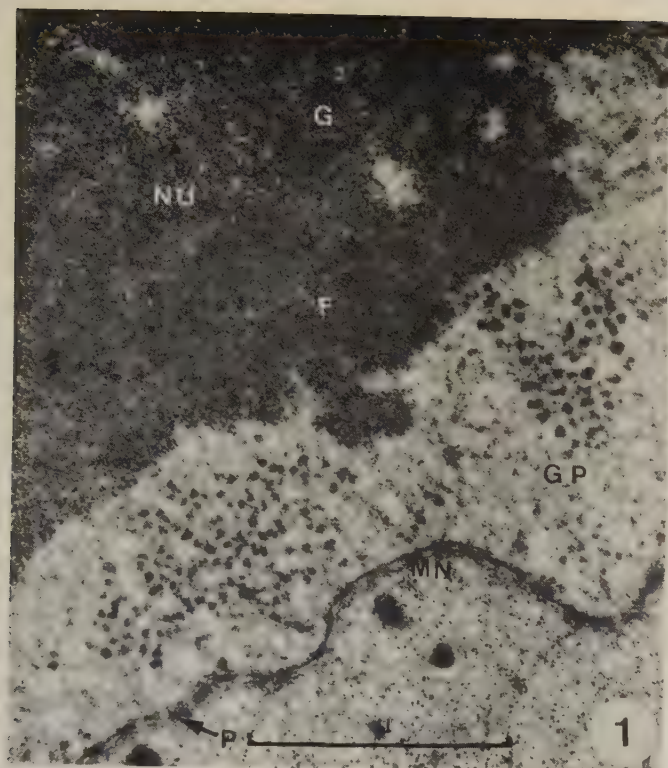


Fig. 1 : Micronucléole constitué de fibrilles et de grains de 400 Å dont certains semblent s'en détacher (ou s'y agglutiner). (X 60 000).

Fig. 2 : Micronucléole essentiellement fibrillaire entouré de grains de 400 Å (X 60 000).

Fig. 3 : Alignement en chaînette de grains périchromatiniens. (X 35 000).

Fig. 4 : Amas de grains de 400 Å ayant la forme et les dimensions des chromosomes (X 12 000).

Fig. 5 : Amas de grains de même constitution mais de forme plus compliquée avec en plus un matériel diffus entre les anses (X 20 000).

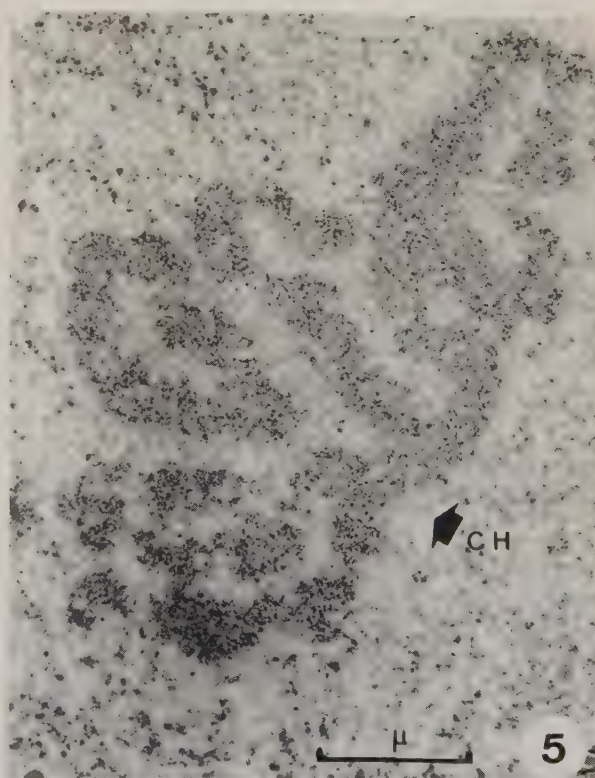
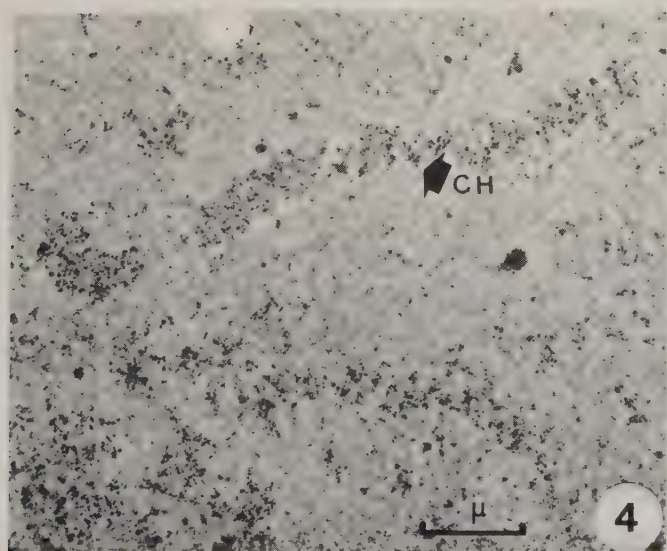
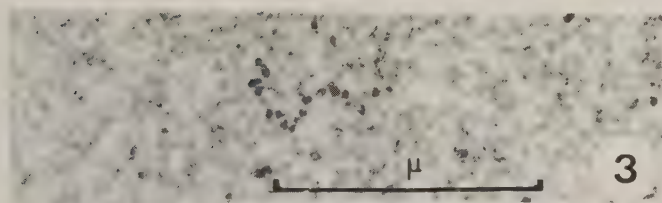
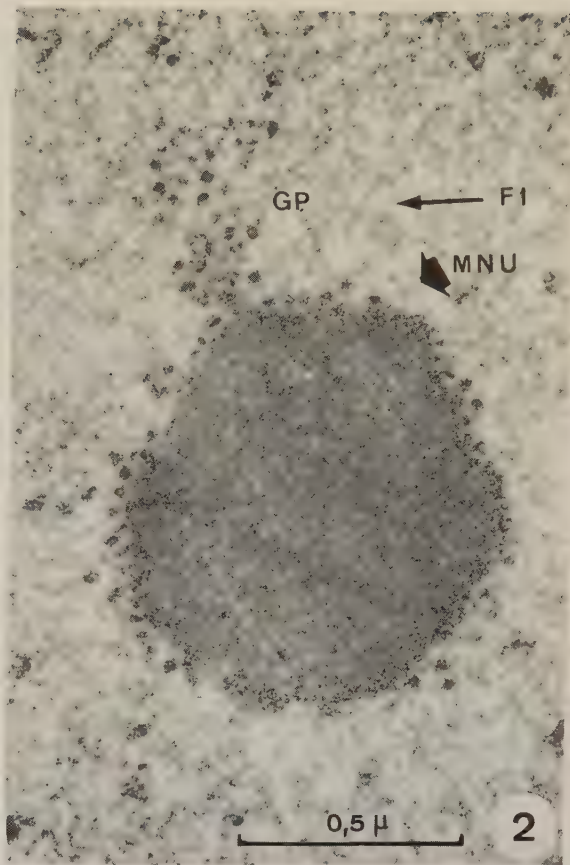
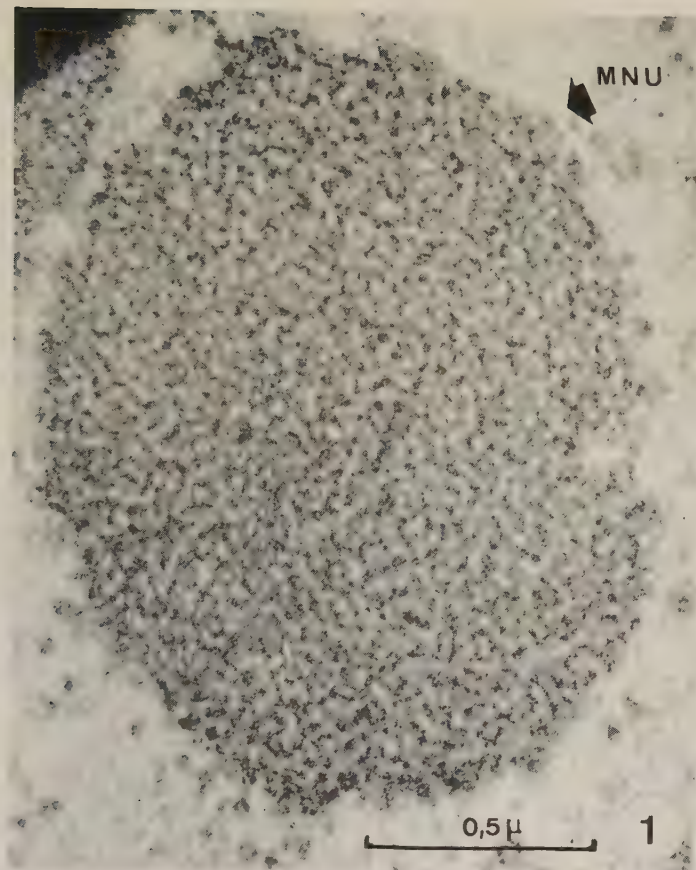


Fig. 1 : Formation de signification inconnue constituée d'une partie centrale granulaire et fibrillaire et d'une partie périphérique formée de sphères de texture fibrillaire (X 35 000).

Fig. 2 : Membrane nucléaire avec des pores et des diverticules de réticulum endoplasmique. Emissions nucléaires dans le cytoplasme (X 60 000).

Fig. 3 : Passage de matériel nucléaire à travers un pore dans le cytoplasme (X 60 000).

Fig. 4 : Emission nucléaire formant dans le cytoplasme un ciment intermitochondrial (X 65 000).

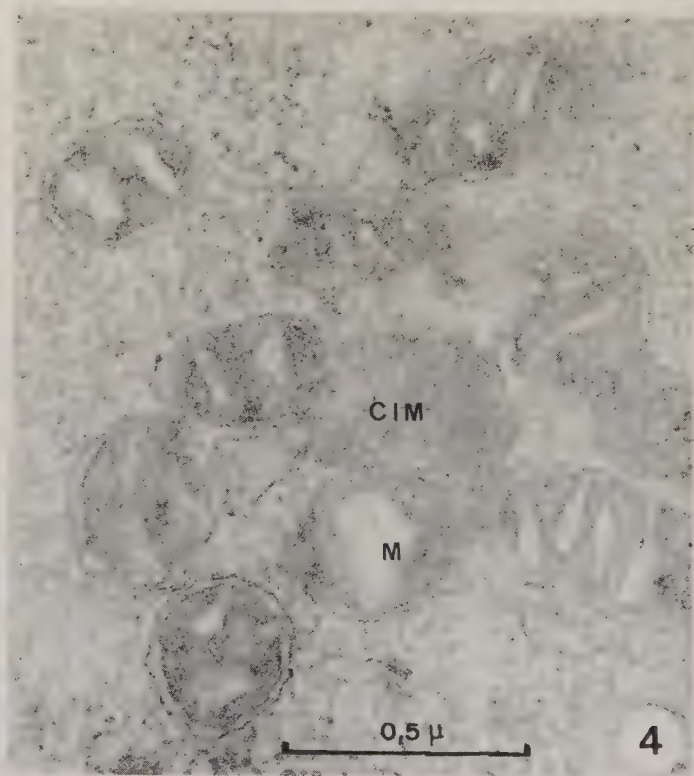
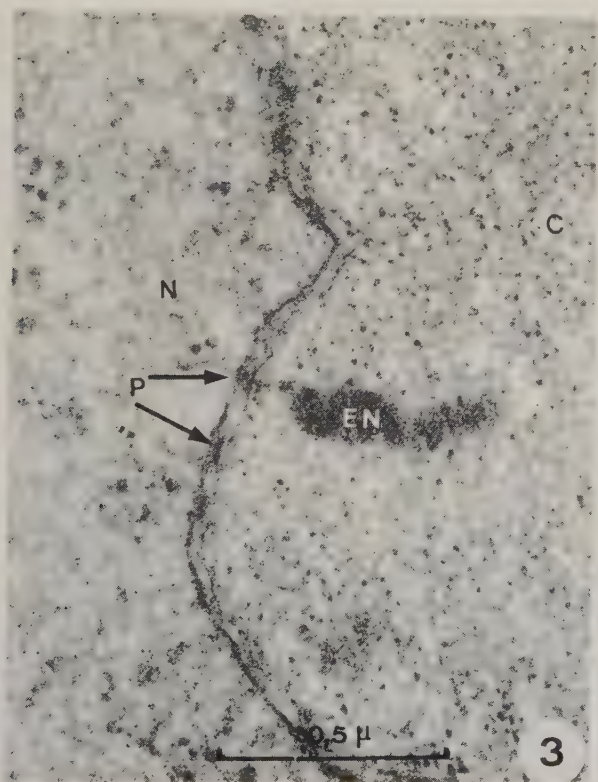
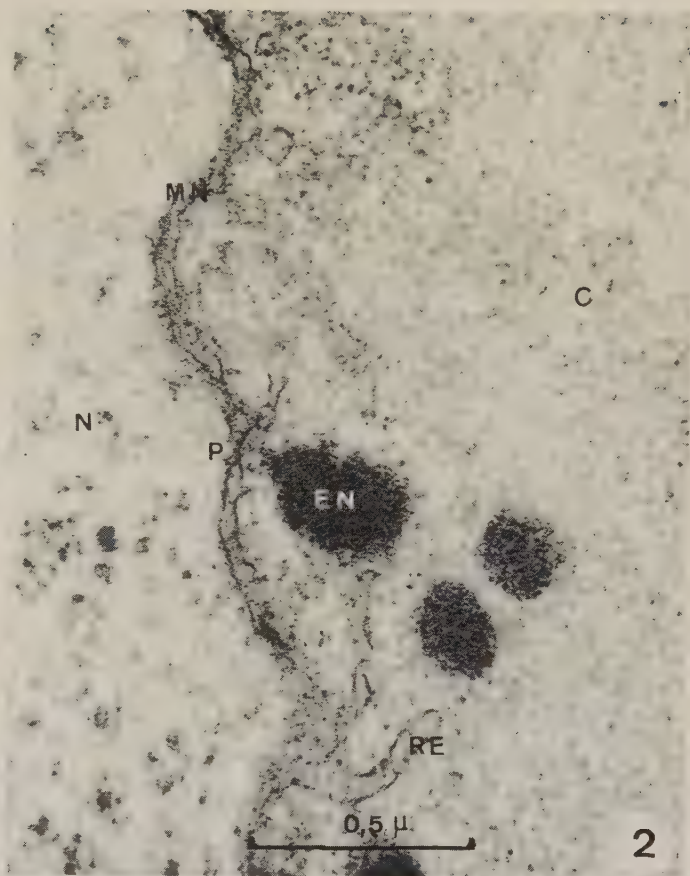
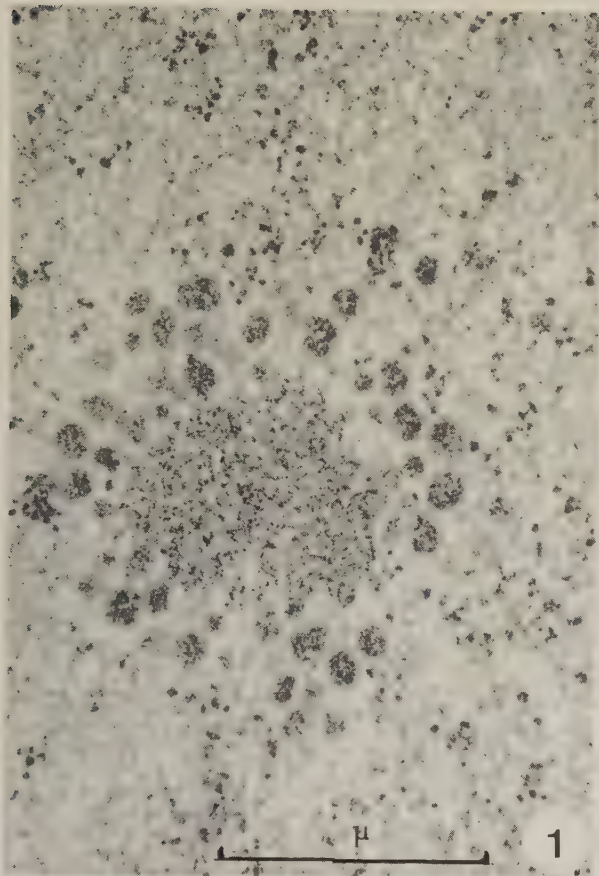


Fig. 1 : Saccules de réticulum endoplasmique lisse. Ribosomes libres. Un microtubule de grande longueur (X 45 000).

Fig. 2 : Réticulum lisse sous forme de tubules allongés dans un ovocyte mûr (X 35 000).

Fig. 3 : Réticulum rugueux et ribosomes libres dans un jeune ovocyte (X 60 000).

Fig. 4 : Enclave lipidique (lipocondrie) sans membrane, entourée de ribosomes disposés radiairement (X 60 000).

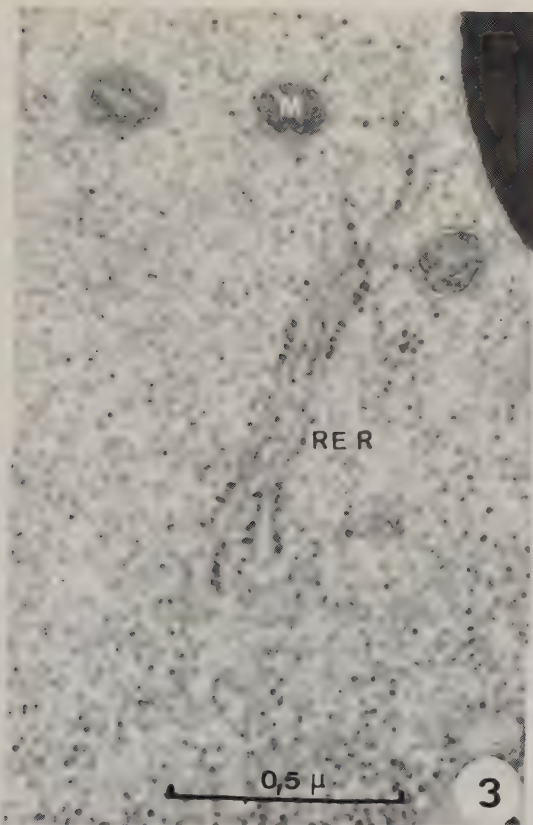
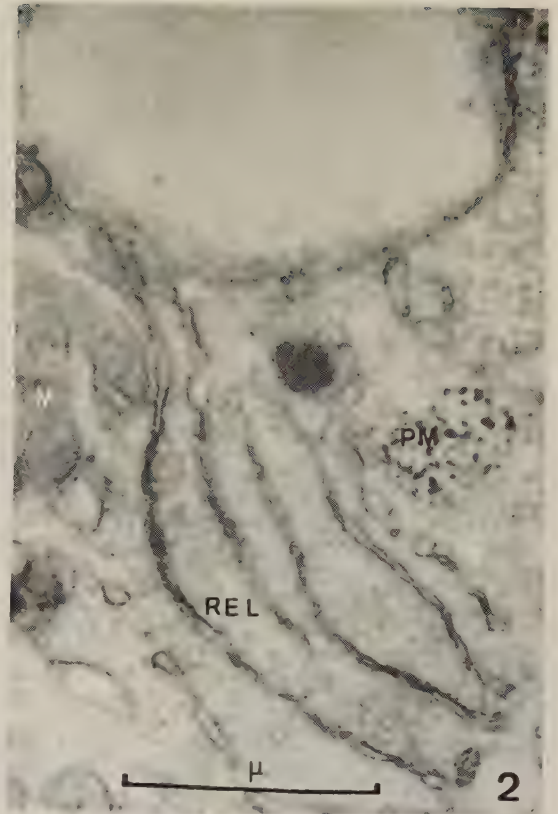
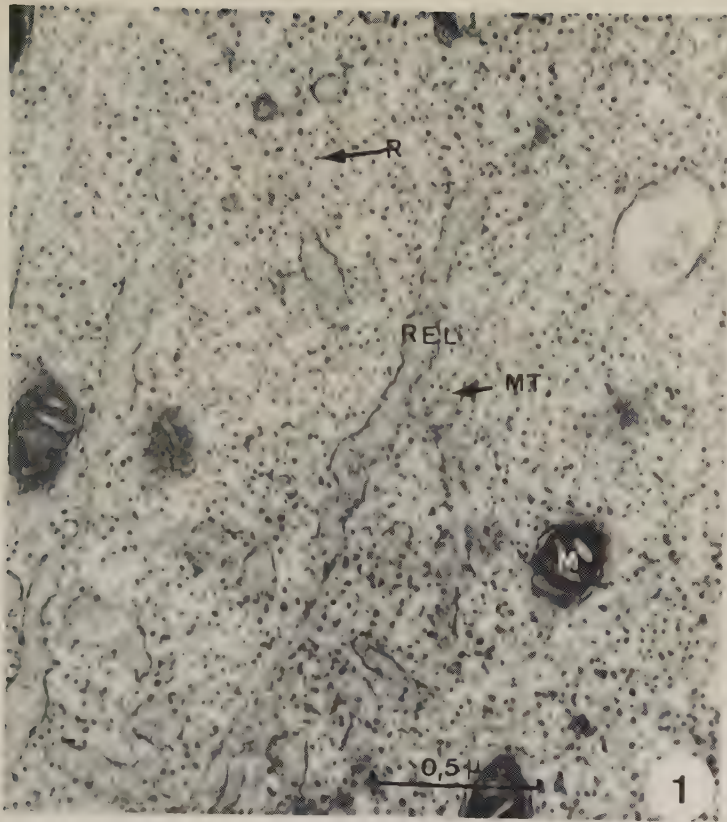


Fig. 1 : Empilement de lamelles annelées en coupe transversale (X 12 000).

Fig. 2 : Lamelles annelées en coupe tangentielle formant un empilement dont les éléments sont ondulés (Fixation : MnO_4K) (X 25 000).

Fig. 3 : Lamelles annelées en coupe transversale montrant des pores identiques à ceux de la membrane nucléaire (X 60 000).

Fig. 4 : Lamelles annelées en coupe tangentielle : pores dont l'anneau semble constitué de tubules (Fixation : glutaraldéhyde) (X 40 000).

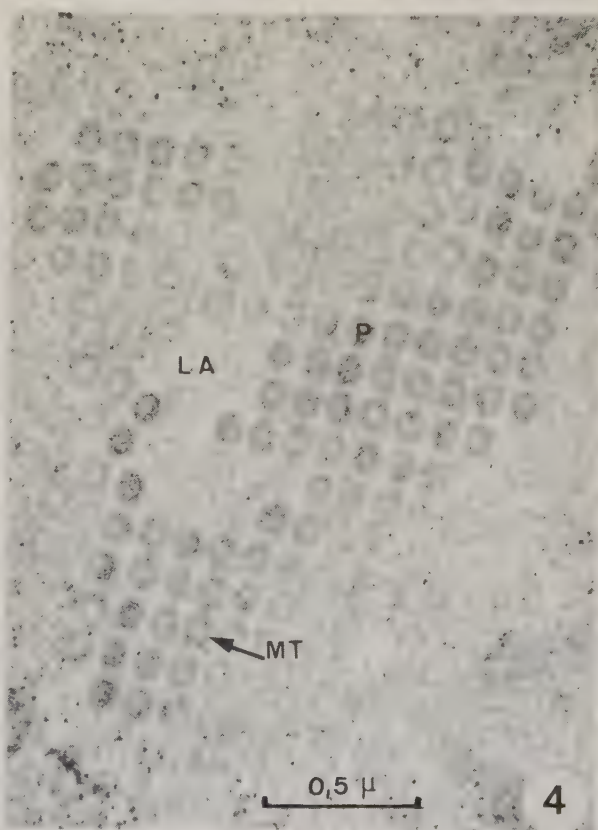
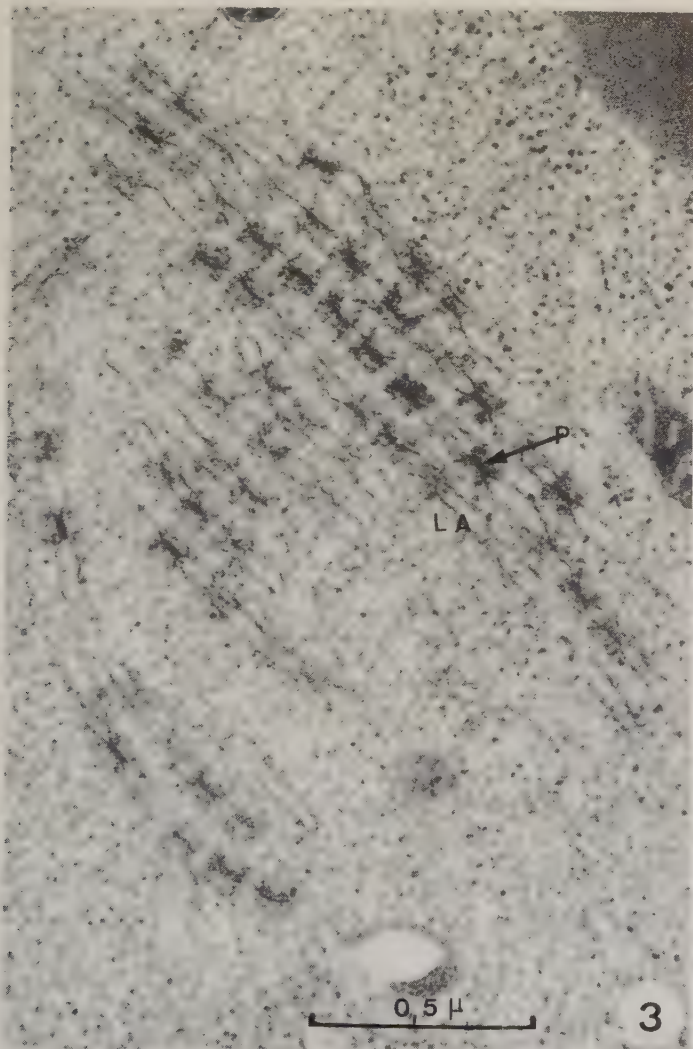
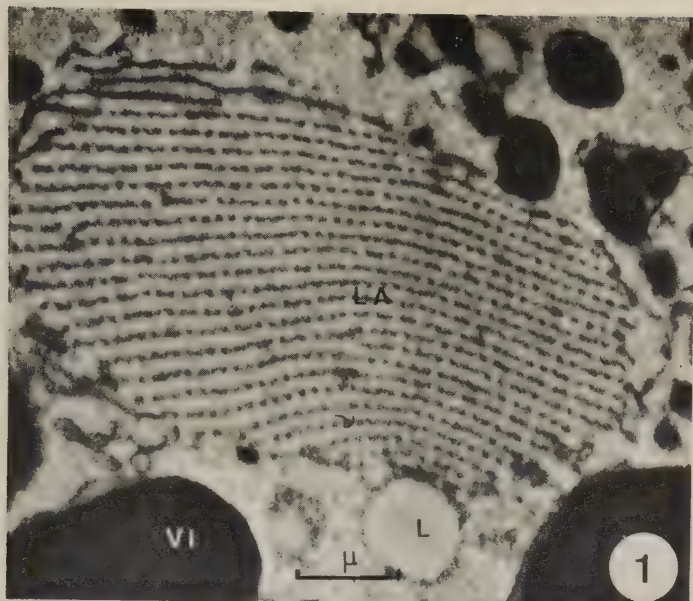


Fig. 1 : Lamelles annelées en formation à partir du réticulum : fragments avec des bifurcations (X 60000).

Fig. 2 : Lamelles annelées en formation : bifurcations et disposition irrégulière des pores (X 60 000).

Fig. 3 : Zone de formation de lamelles annelées à partir de saccules de réticulum endoplasmique (X 35 000).

Fig. 4 : Formation de réticulum vésiculaire à partir de lamelles annelées dans un ovocyte de 500 μ (X 11 000).

Fig. 5 : Transformation de lamelles annelées en réticulum tubulaire dans un ovocyte de 1 100 μ (X 35 000).

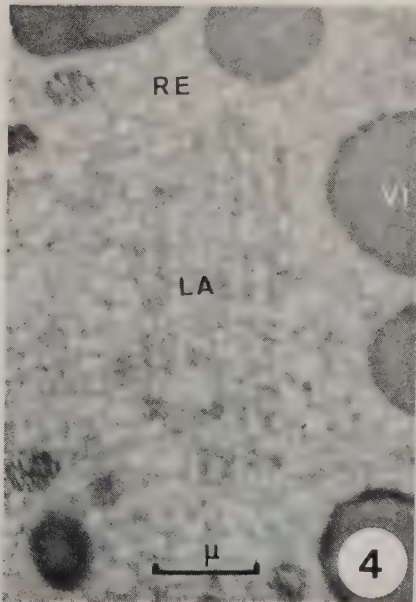
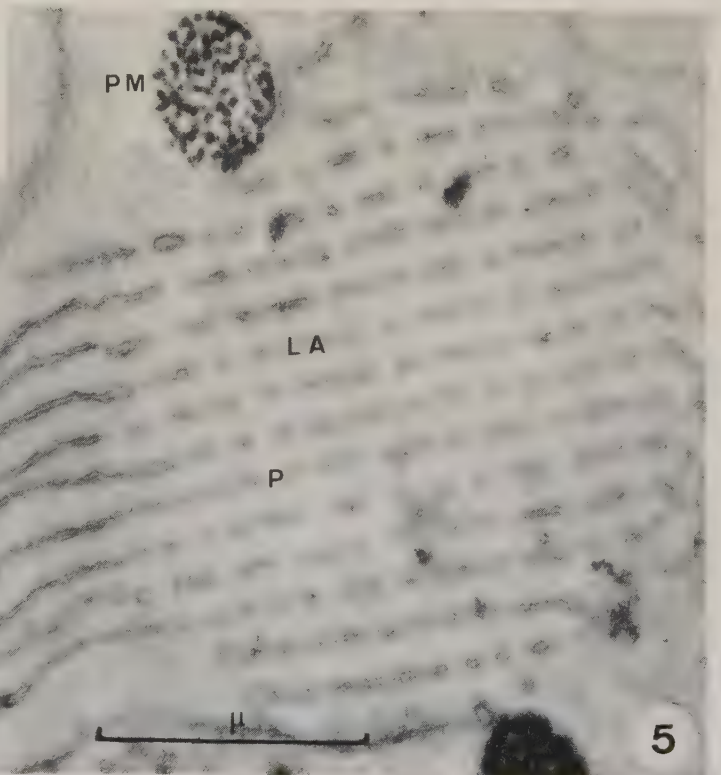
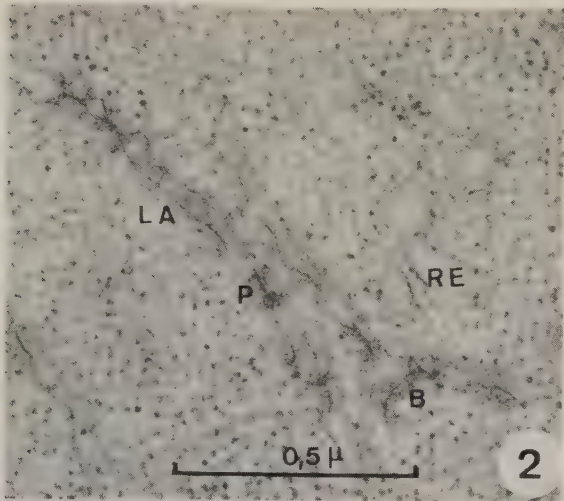
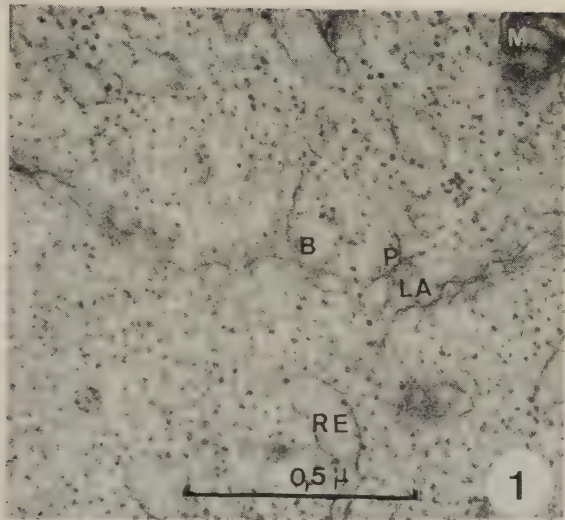


Fig. 1 : Association de saccules de réticulum en coupe transversale (X 60 000).

Fig. 2 : Même empilement de saccules en coupe tangentielle avec un ciment dense entre eux (X 60 000).

Fig. 3 : Contact entre ce type de réticulum et des lamelles annelées (X 45 000).

Fig. 4 : Transformation de lamelles annelées en ce réticulum, et dictyosome à saccules gonflés (X 35 000).

Fig. 5 : Fort grossissement de la figure précédente montrant la transformation des lamelles annelées, et des vésicules intermédiaires entre le réticulum et le dictyosome (X 60 000).

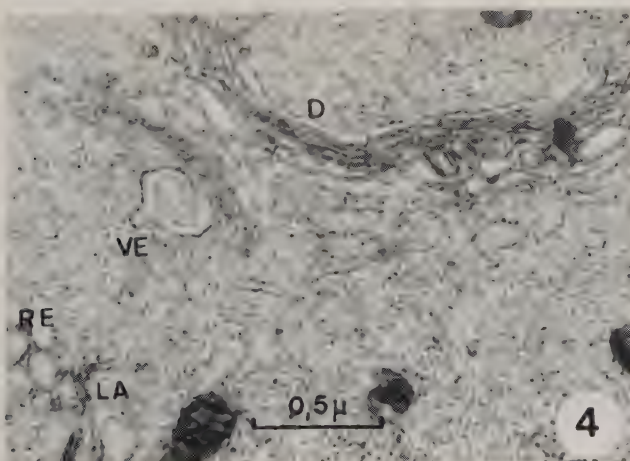
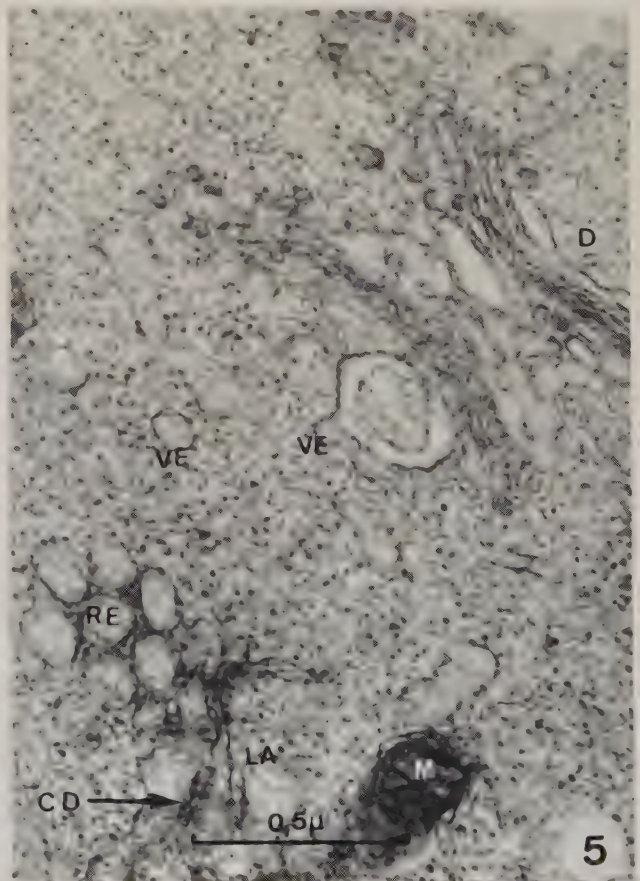
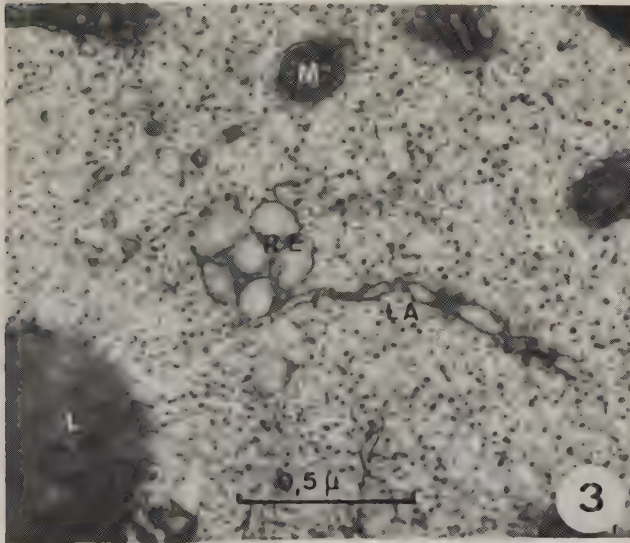
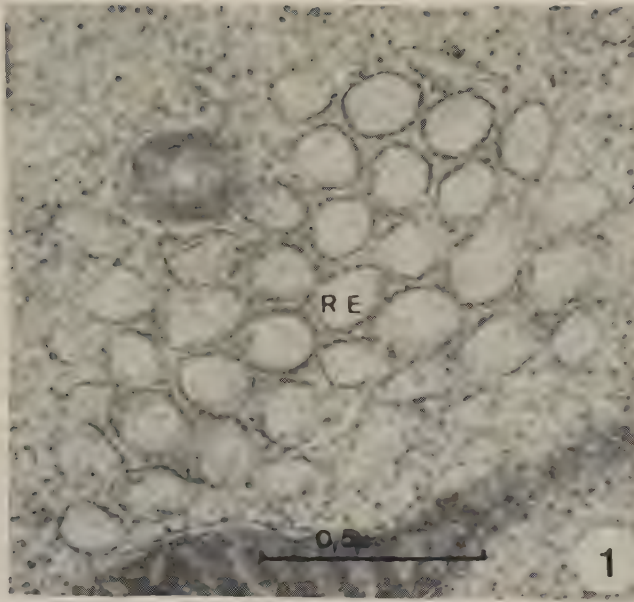


Fig. 1 : Mitochondrie typique à crêtes claires et transversales (X 34 000).

Fig. 2 : Mitochondrie dont une partie des crêtes a changé d'orientation (X 45 000).

Fig. 3 : Mitochondrie à crêtes longitudinales (X 60 000).

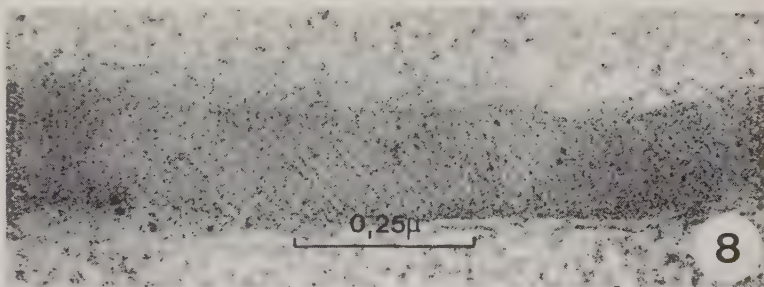
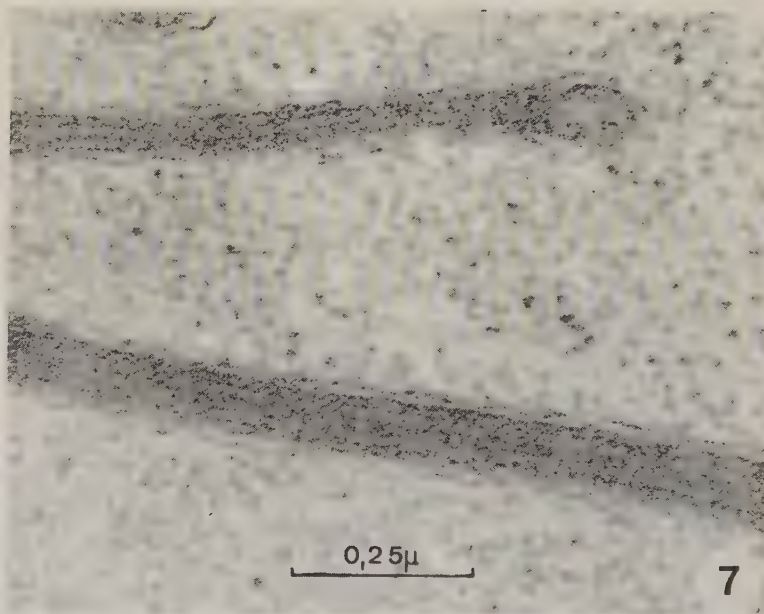
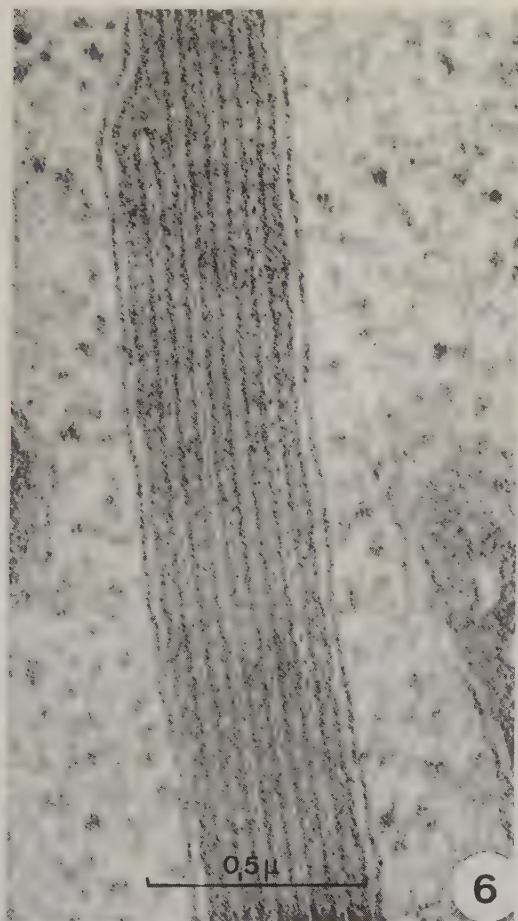
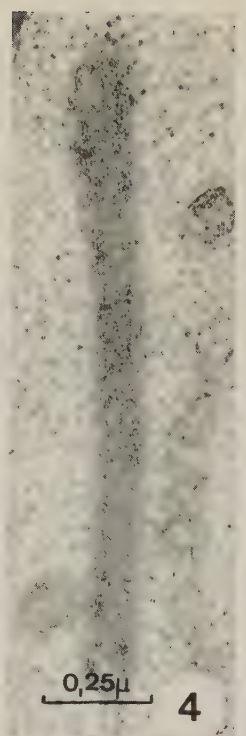
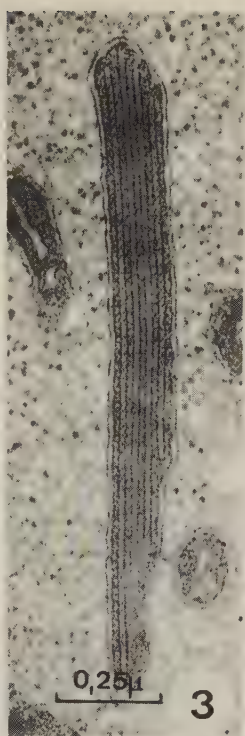
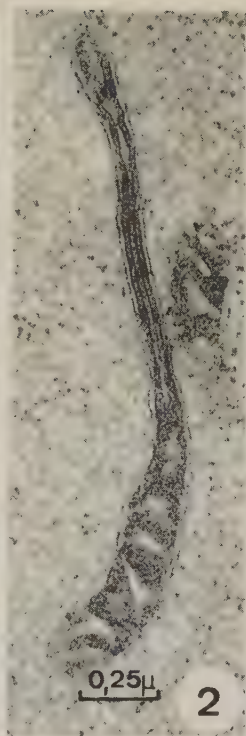
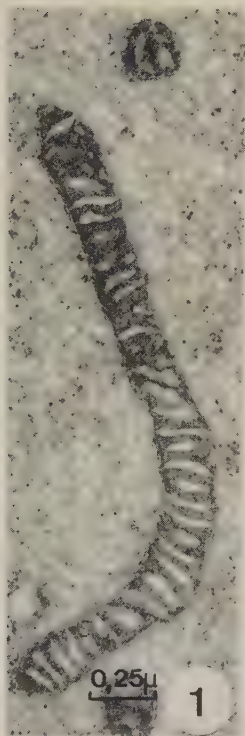
Fig. 4 : Homogénéisation des crêtes et de la matrix (X 60 000).

Fig. 5 : Transformation de la mitochondrie en noyau paracristallin (X 45 000).

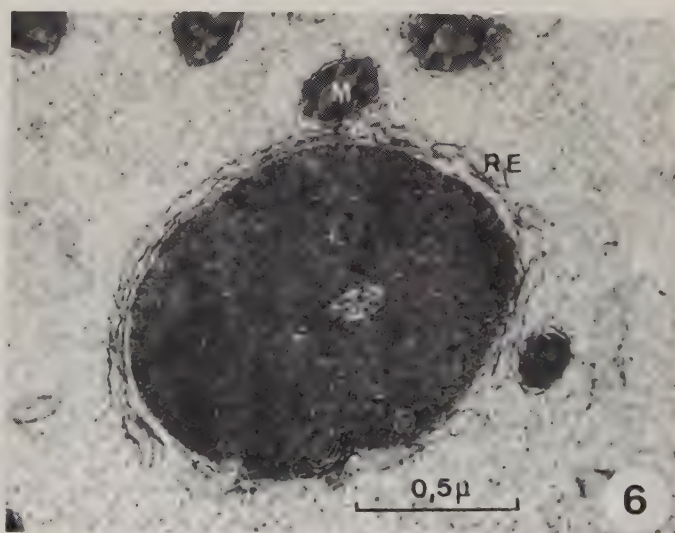
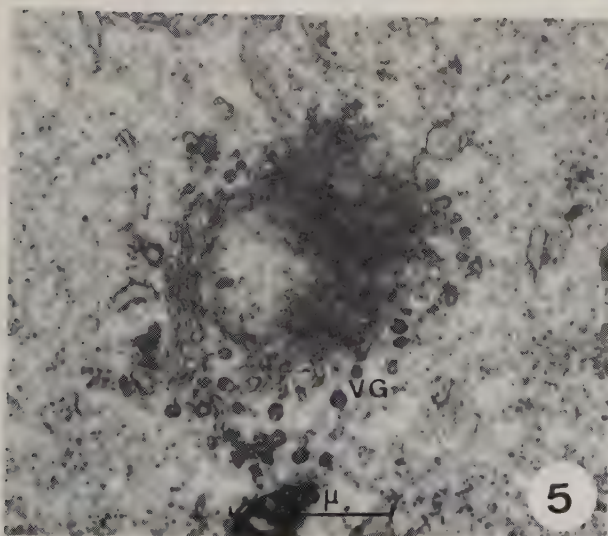
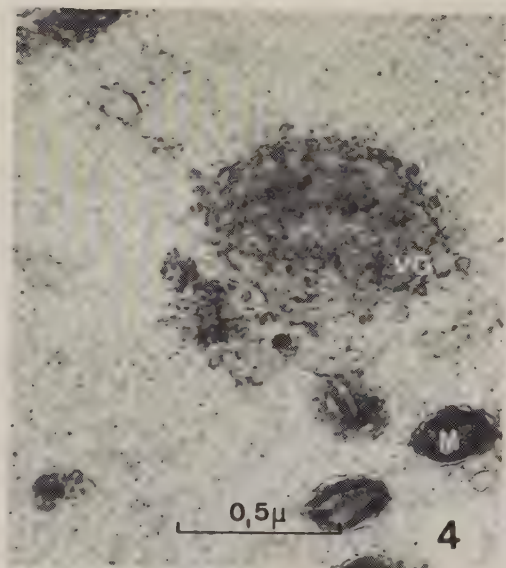
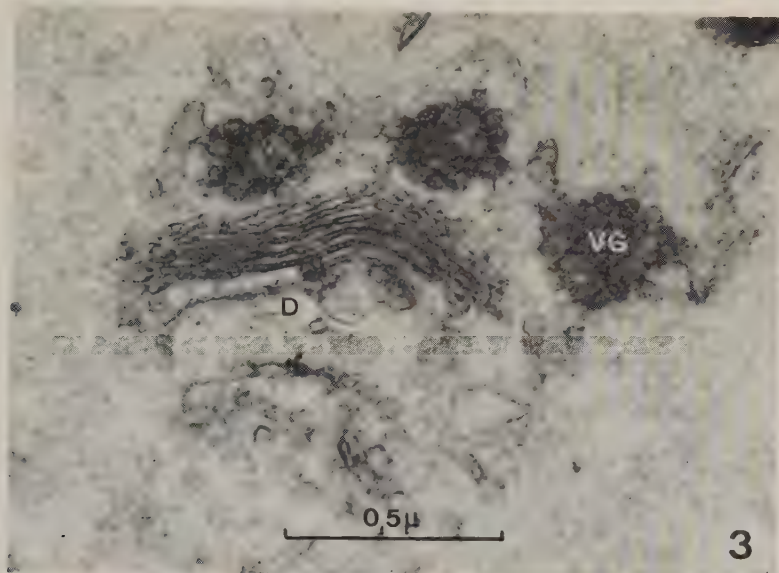
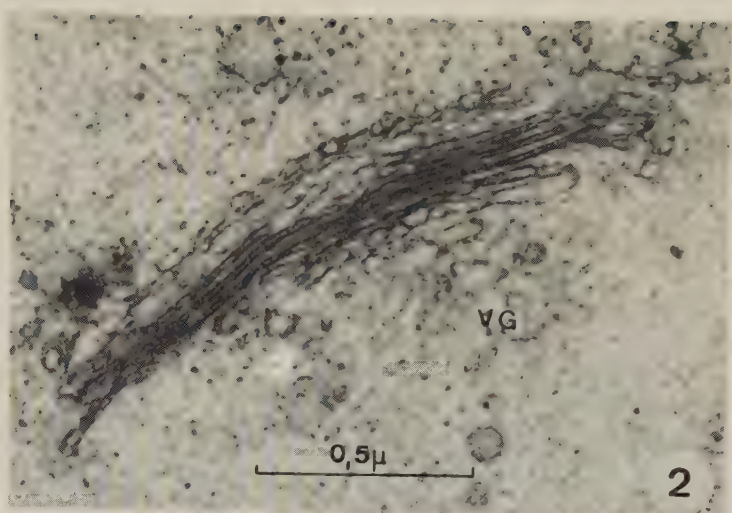
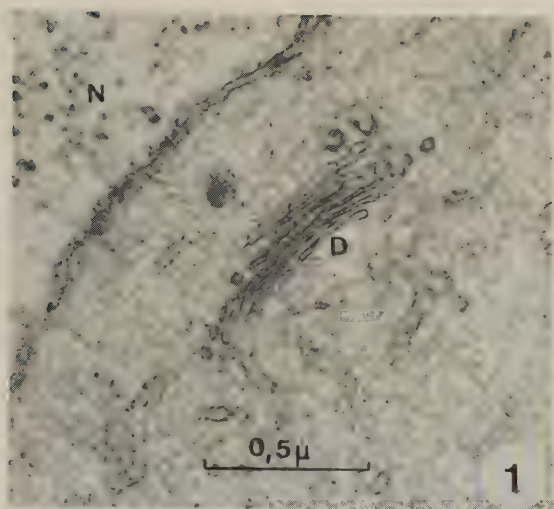
Fig. 6 : Fort grossissement de la fig. 3 montrant le dépôt de grains et de bâtonnets dans et entre les crêtes (X 170000).

Fig. 7 : Orientation à 45° des bâtonnets par rapport aux crêtes (X 105 000).

Fig. 8 : Fort grossissement de la fig. 5 : réseau paracristallin achevé (X 105 000).



- Fig. 1 : Dictyosome normal dans la région périnucléaire d'un jeune ovocyte (250μ) (X 45 000).
- Fig. 2 : Dictyosome plus vésiculeux et plus dense dans la région corticale du même ovocyte (X 60 000).
- Fig. 3 : Amas de vésicules golgiennes autour d'un dictyosome (X 60 000).
- Fig. 4 : Fusion des vésicules golgiennes (X 45 000).
- Fig. 5 : Fusion plus poussée des mêmes vésicules (X 45 000).
- Fig. 6 : Fusion achevée sauf à la périphérie. Saccules de réticulum autour de ce précurseur de vitellus (X 45 000).



P L A N C H E X I I

Fig. 1 : Transformation de la texture centrale du corps prévitellin (X 60 000).

Fig. 2 : Formation d'un réseau paracristallin dans la substance dense centrale (X 95 000).

Fig. 3 : Corps prévitellin contenant une mitochondrie (X 60 000).

Fig. 4 : Corps prévitellin constitué de vésicules et d'une substance fondamentale distincte du cytoplasme (X 45 000).

Fig. 5 : Même substance aux abords d'un corps prévitellin contenant un noyau paracristallin (X 45 000).

Fig. 6 : Corps prévitellin contenant des formations myéliniques (X 45 000).

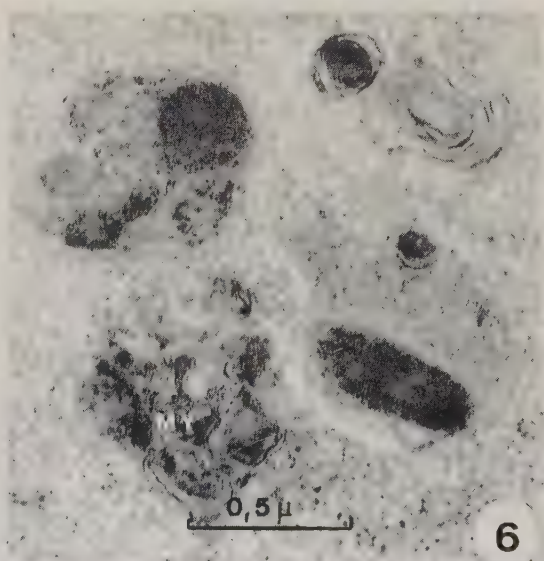
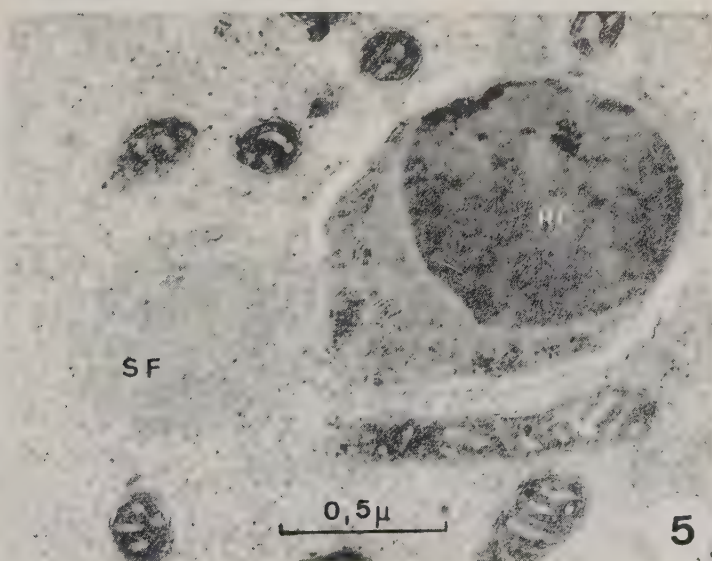
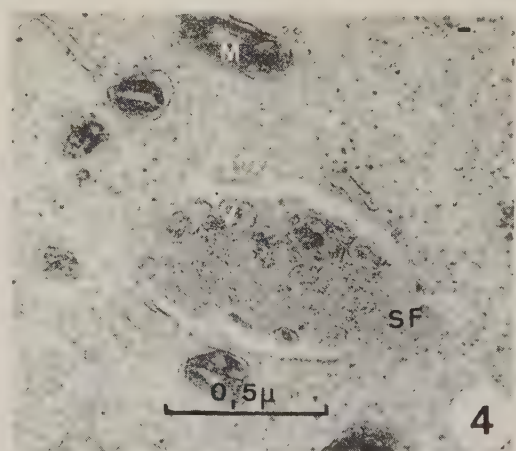
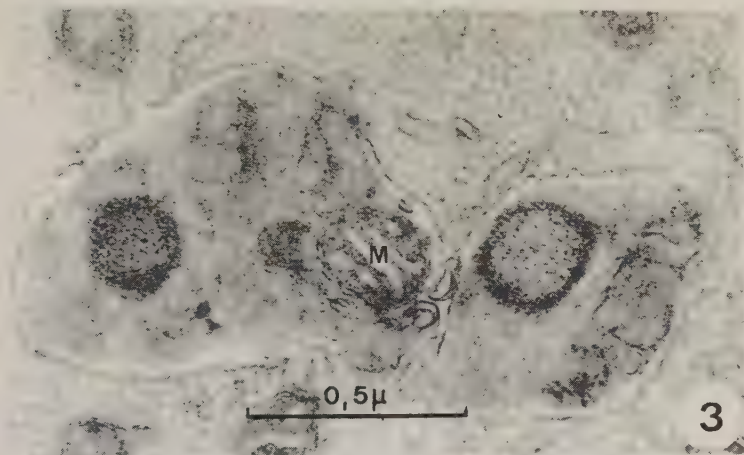
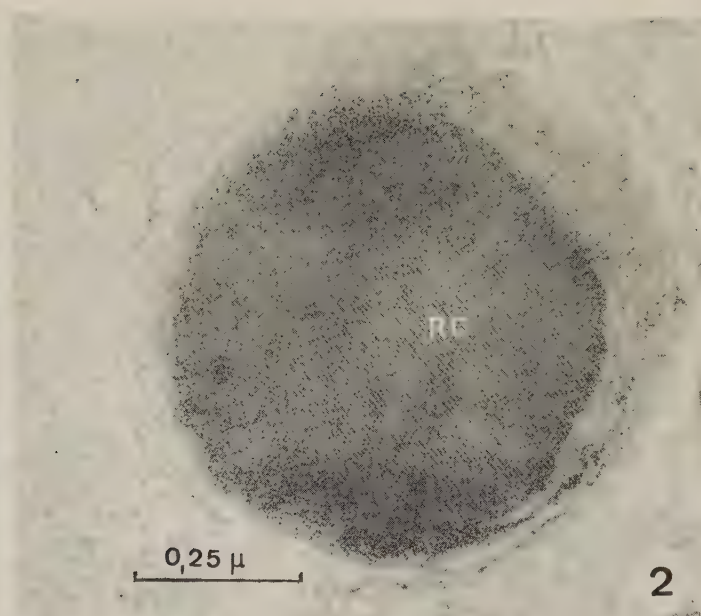
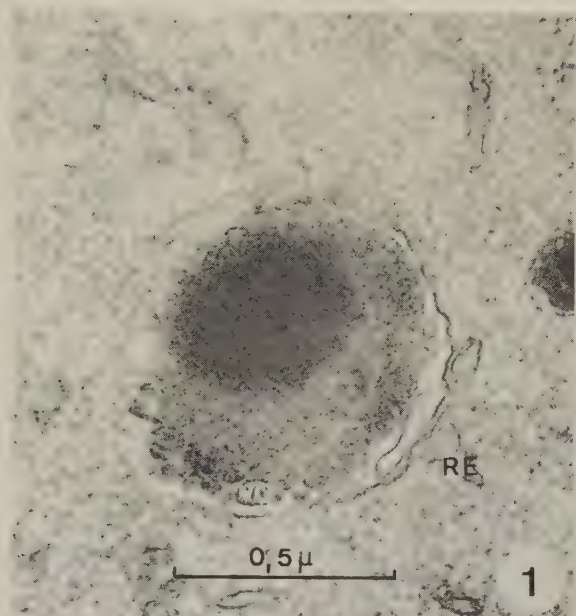


Fig. 1 : Formation de vésicules de pinocytose à la surface d'un ovocyte de 800 μ (X 45 000).

Fig. 2 : Fusion de deux vésicules de pinocytose (X 80 000).

Fig. 3 : Vésicule plus grosse résultant de la fusion des petites vésicules de pinocytose (X 80 000).

Fig. 4 : Transformation de la texture du contenu des vésicules (X 100 000).

Fig. 5 : Transformation en réseau paracristallin (X 150 000).

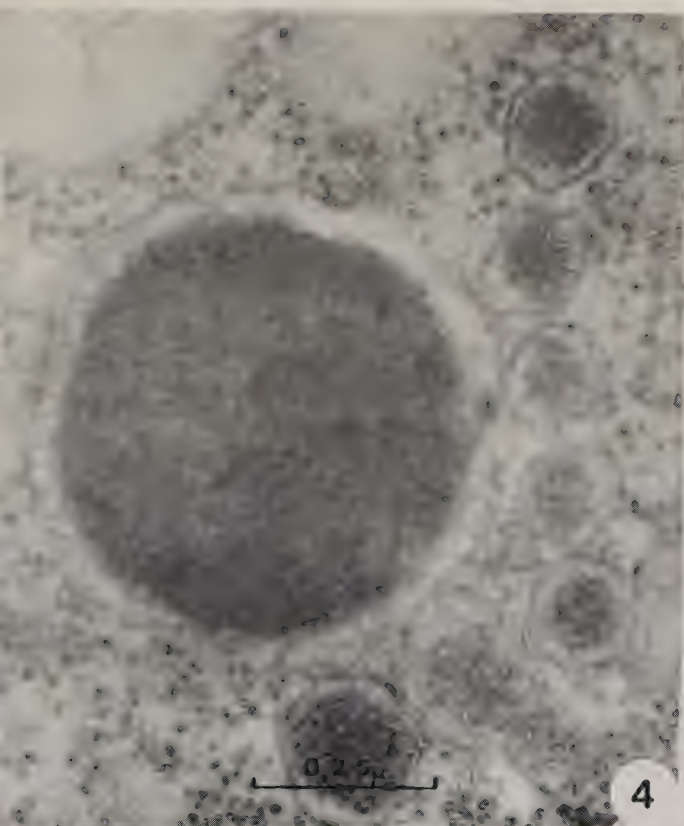
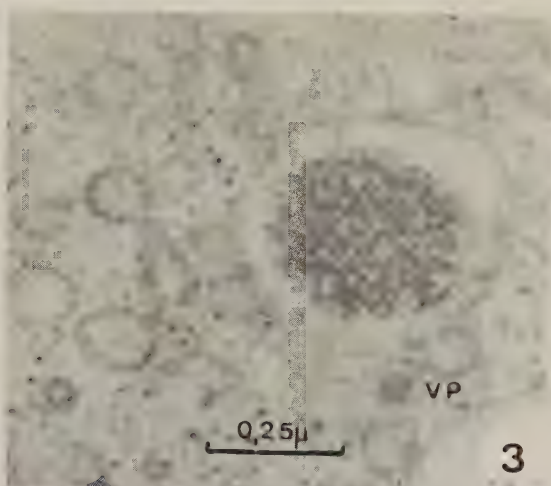
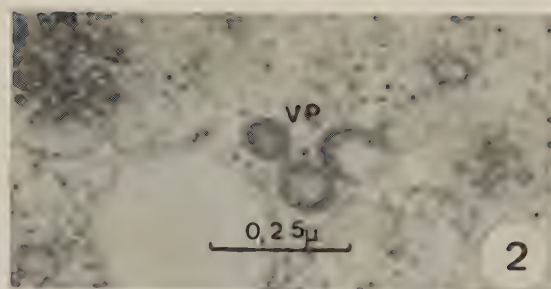
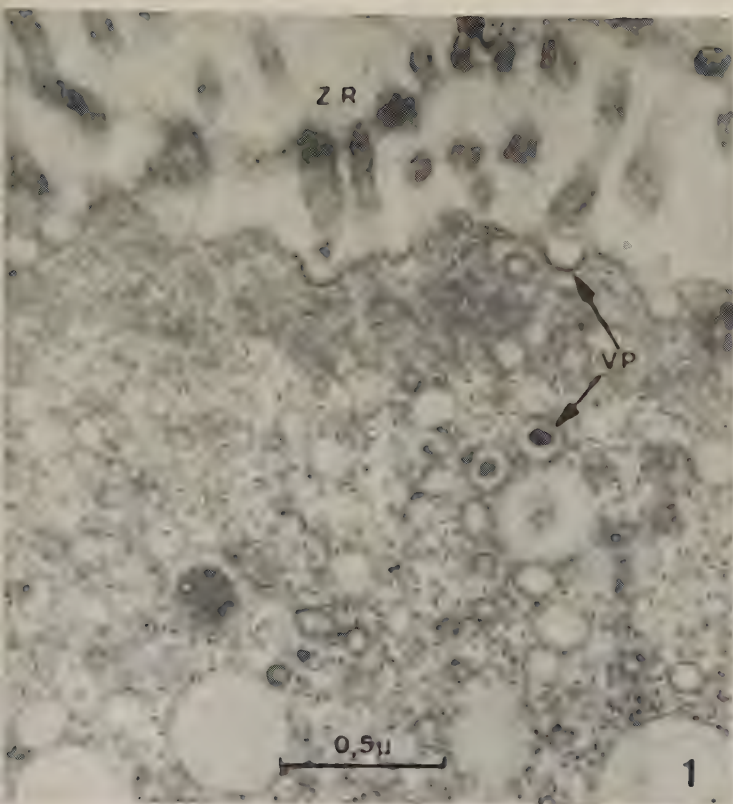


Fig. 1 : Plaquettes vitellines entourées de saccules de réticulum (X 35 000).

Fig. 2 : Plaquette vitelline type : membrane externe, zone granuleuse périphérique claire sauf aux deux pôles, noyau paracristallin (X 60 000).

Fig. 3 : Réseau paracristallin formé de lignes parallèles séparées par 70 Å (X 135 000).

Fig. 4 : Réseau paracristallin selon une autre incidence de coupe : deux directions constituées de bâtonnets de 30 Å (150 000).

Fig. 5 : Troisième incidence de coupe possible : lignes parallèles séparées par 40 Å (X 135 000).

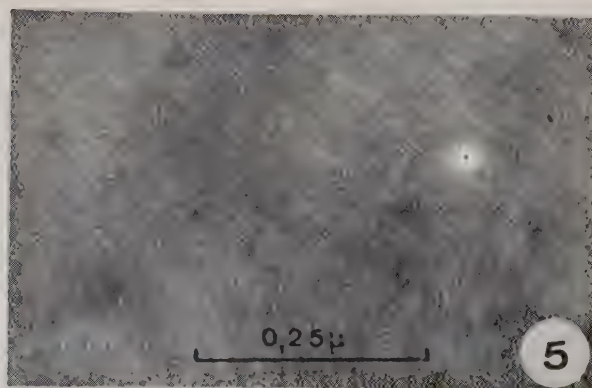
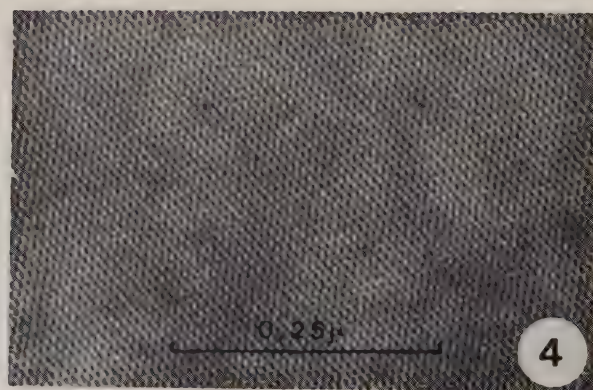


Fig. 1 : Saccules de réticulum endoplasmique de petite dimension, l'un contenant un matériel dense ; ceci dans la région périnucléaire (X 70 000).

Fig. 2 : Saccule identique de taille plus grande (X 70 000).

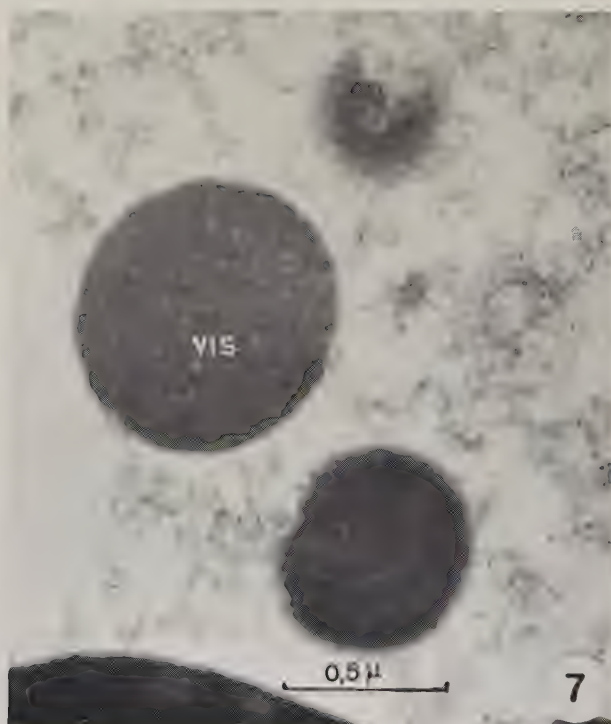
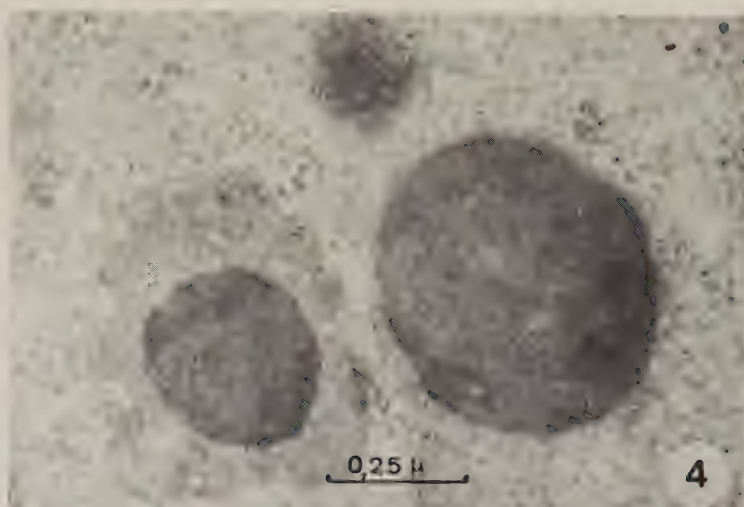
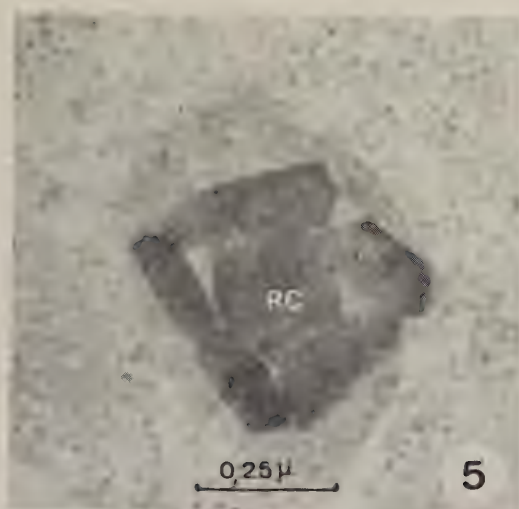
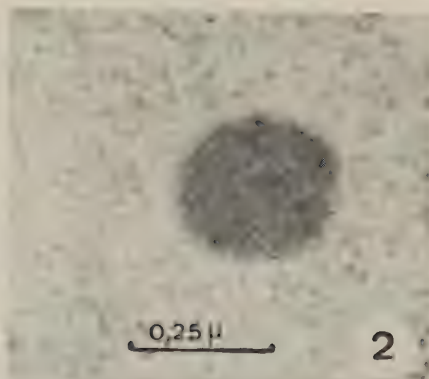
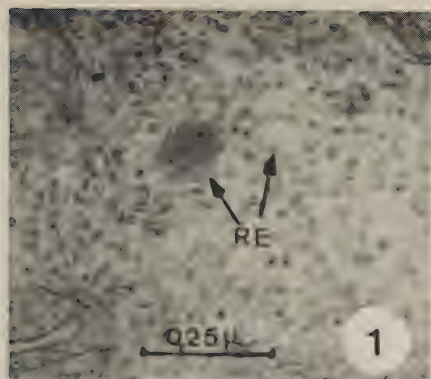
Fig. 3 : Saccule dont le contenu devient plus dense dans la région centrale (X 75 000).

Fig. 4 : Transformation de la totalité du contenu de ces saccules (X 70 000).

Fig. 5 : Juxtaposition de saccules de réticulum contenant des noyaux paracristallins (X 70 000).

Fig. 6 : Grain de vitellus secondaire dont les réseaux sont encore apparents et n'ont pas fusionné (X 90 000).

Fig. 7 : Grain de vitellus secondaire dont l'évolution est terminée, sans réseau paracristallin et constellé de tâches claires (X 45 000).



- Fig. 1 : Enveloppes d'un ovocyte de 500μ montrant le cytoplasme cortical, la *zona radiata* avec ses deux couches interne et externe et ses deux sortes de microvillosités, une cellule folliculeuse, la thèque et l'épithélium de surface (X 9 000).
- Fig. 2 : Microvillosités émises par l'ovocyte, baignant dans la substance fibrillaire de la *zona radiata*. Rares vésicules de pinocytose (X 47 000).
- Fig. 3 : Microtubules des microvillosités se terminant en racines dans le cytoplasme cortical. Microvillosités d'une cellule folliculeuse se terminant dans une crypte à la surface de l'ovocyte (X 80 000).
- Fig. 4 : Vésicules de pinocytose très abondantes à la surface d'un ovocyte de $1\ 100\mu$ (X 60 000).

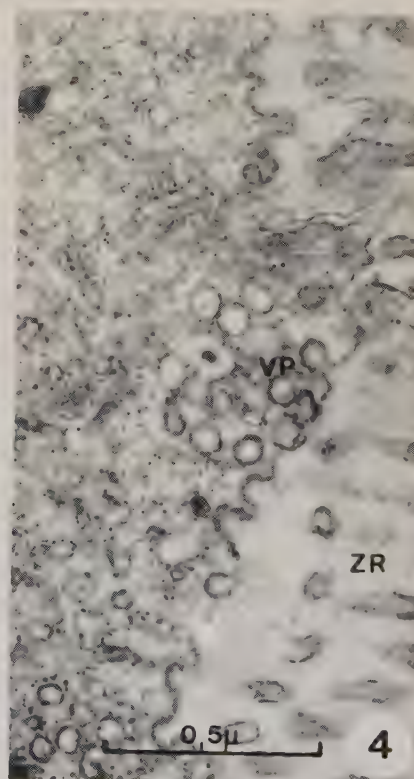
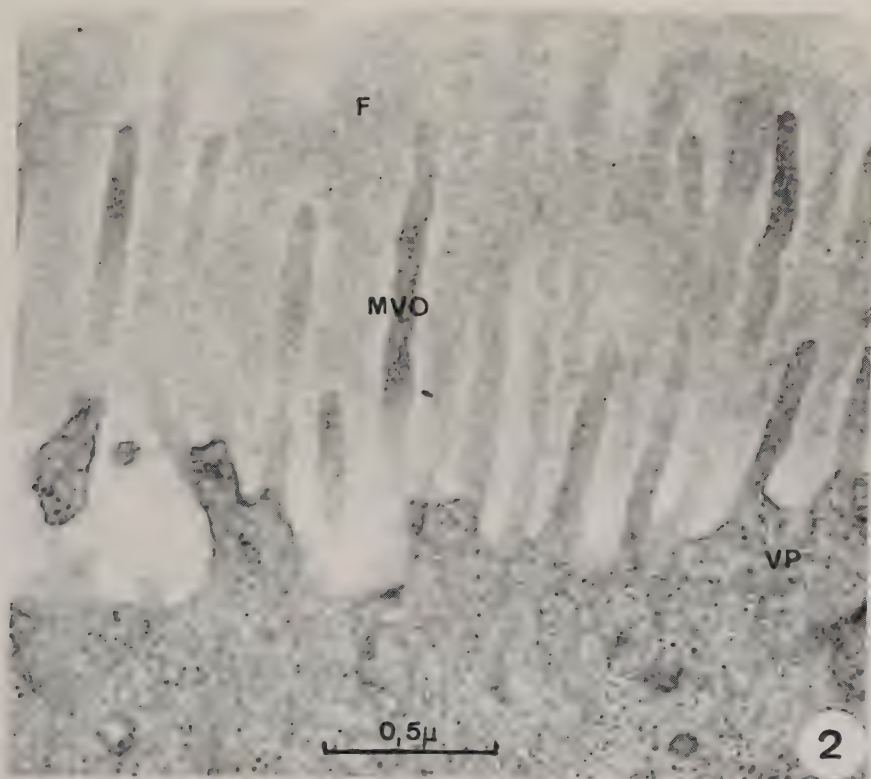
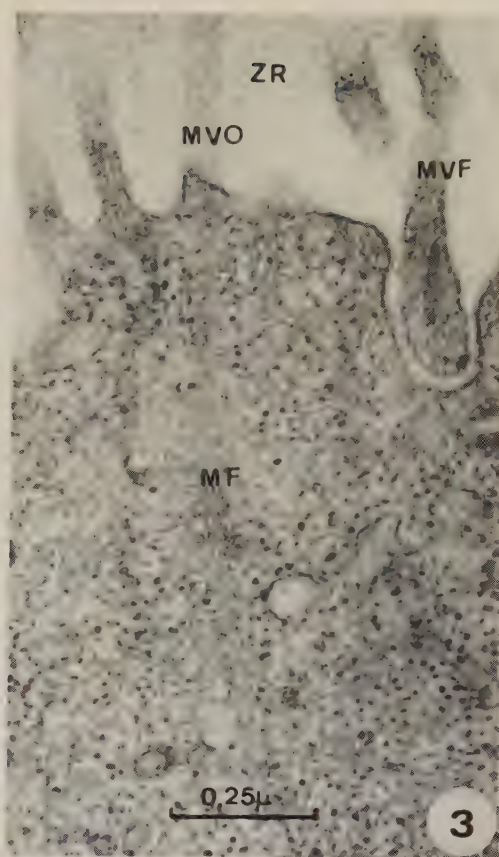
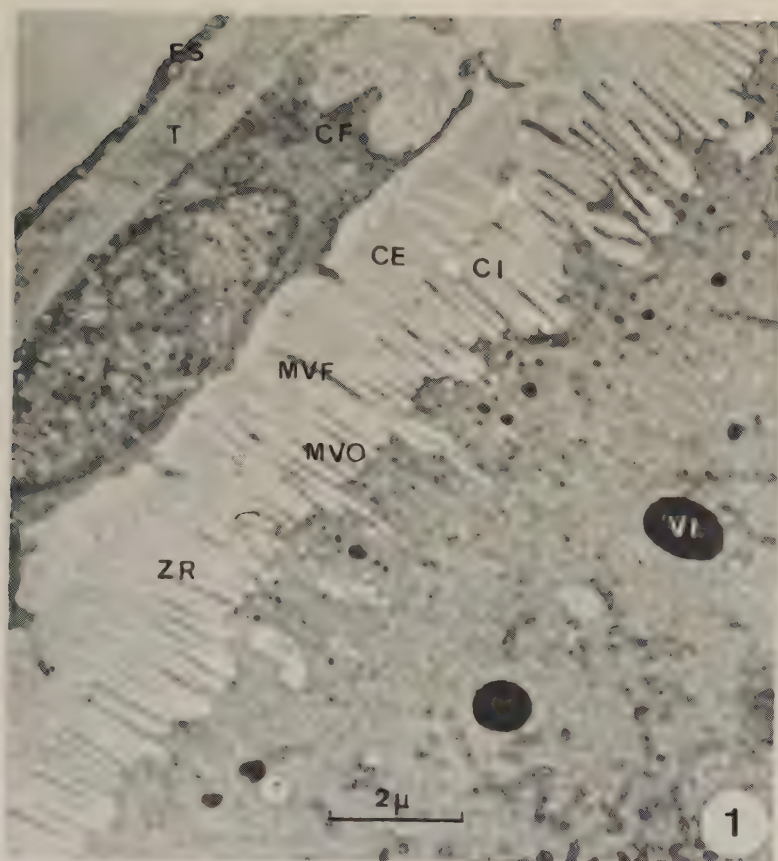


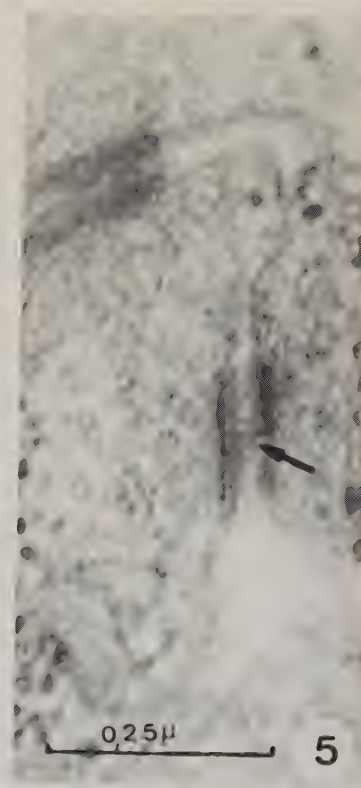
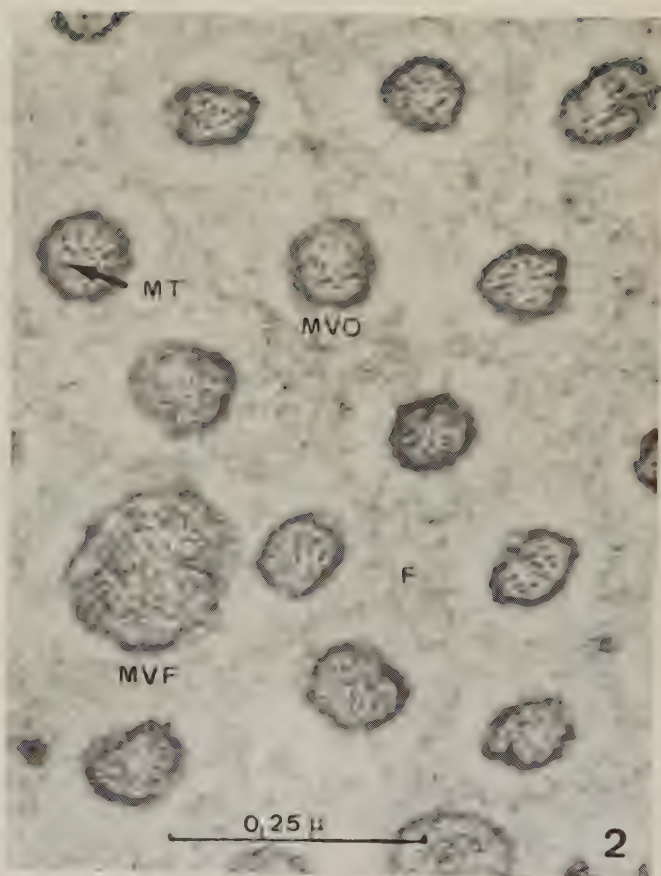
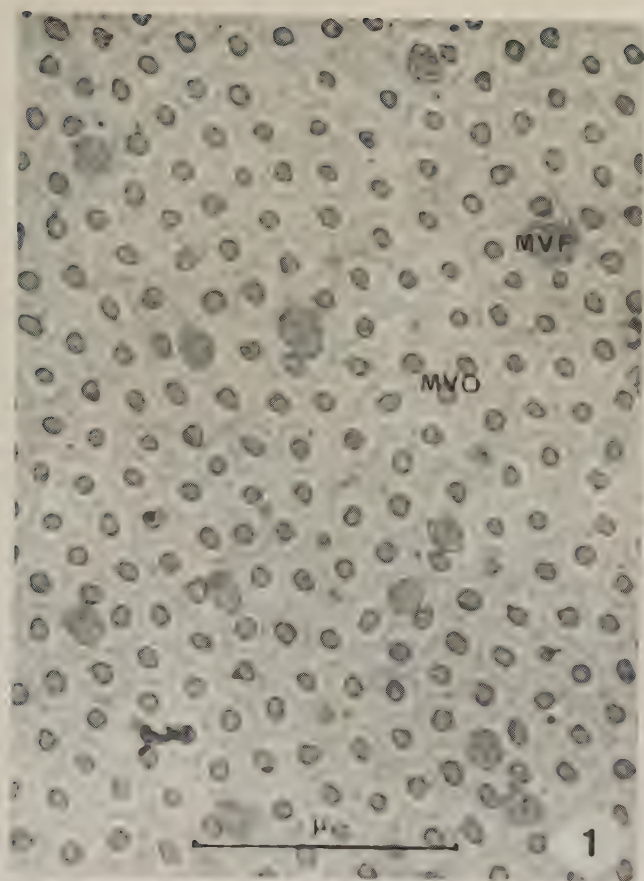
Fig. 1 : Coupe transversale de la *zona radiata* montrant les deux sortes de microvillosités (X 36 000).

Fig. 2 : Fort grossissement de la précédente : microtubules (flèche) constituant le squelette interne des microvillosités. Substance fondamentale fibreuse et auréole claire autour des microvillosités (X 140 000).

Fig. 3 : Coupe longitudinale de microvillosités montrant les microtubules (X 100 000).

Fig. 4 : Insertion par un desmosome d'une microvillosité de cellules folliculeuse sur l'ovocyte (X 60000).

Fig. 5 : Présence d'un pont entre les deux membranes dans l'intérieur du desmosome (flèche) (X 140 000).



- Fig. 1 : Microvillosités en formation à la surface d'un jeune ovocyte. Zone de contact entre l'ovocyte et la cellule folliculeuse. Trace de substance floconneuse dans l'espace intercellulaire (X 45 000).
- Fig. 2 : Large zone de contact entre un jeune ovocyte et une cellule folliculeuse. Thèque et épithélium folliculaire de faible épaisseur. Substance floconneuse dans l'espace intercellulaire élargi (x 45 000).
- Fig. 3 : Ensemble d'une cellule folliculeuse avec ses divers organites et en particulier un grain dense et un cil atypique. Portion d'une cellule thécale et membrane basale (X 30 000).
- Fig. 4 : Diplosome dans une cellule folliculeuse (X 45 000).

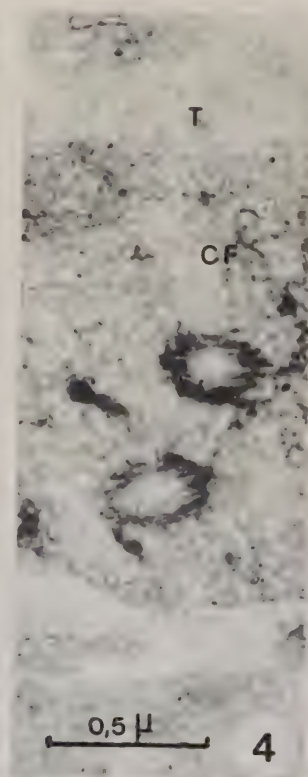
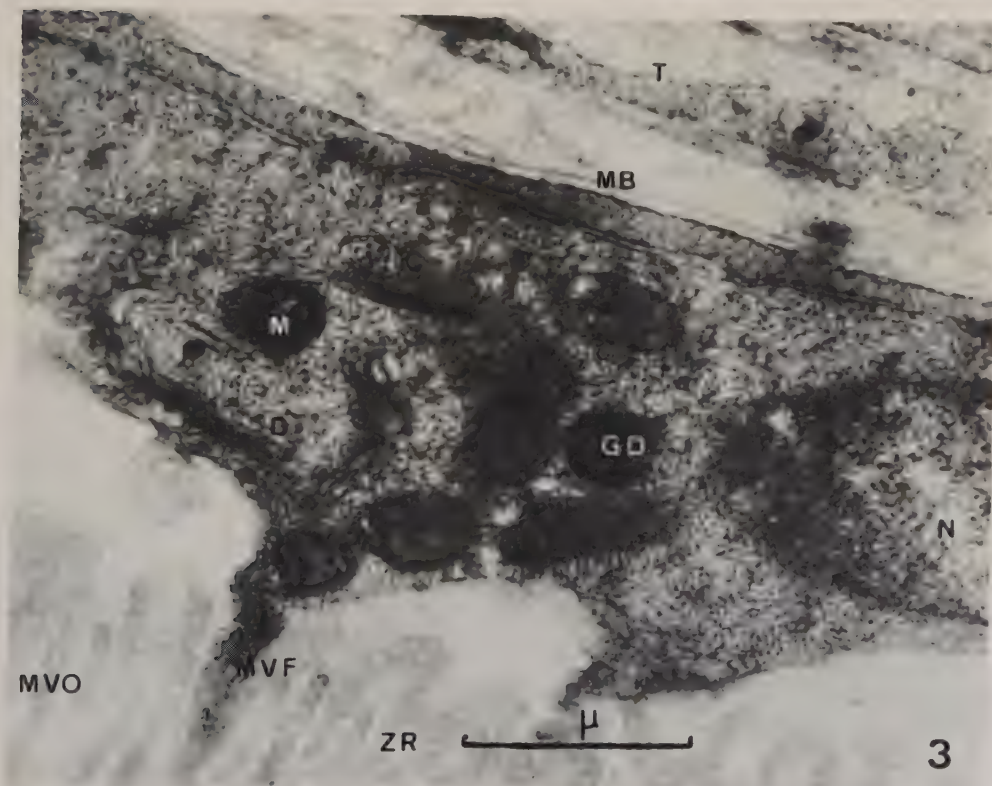
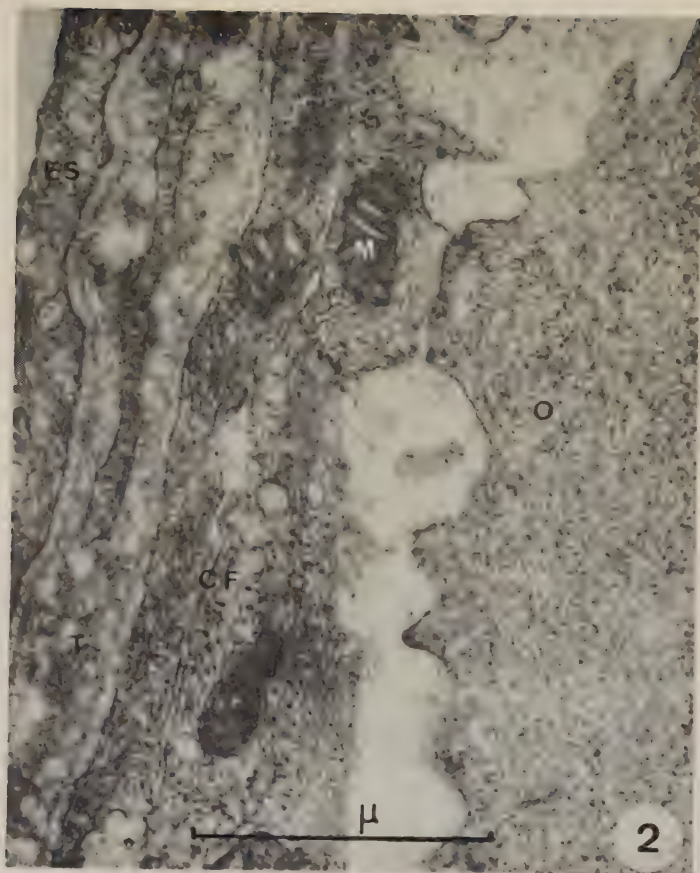


Fig. 1 : Cellule de l'épithélium folliculaire avec nombreux microfilaments (X 45 000).

Fig. 2 : Portion d'une cellule folliculeuse montrant des dictyosomes, du réticulum endoplasmique et des grains denses (X 35 000).

Fig. 3 : Fort grossissement d'une portion identique avec grain dense et microfilaments (X 60 000).

Fig. 4 : Cellule folliculeuse présentant de larges échancrures du côté de la *zona radiata* à la périphérie d'un jeune ovocyte (X 9 000).

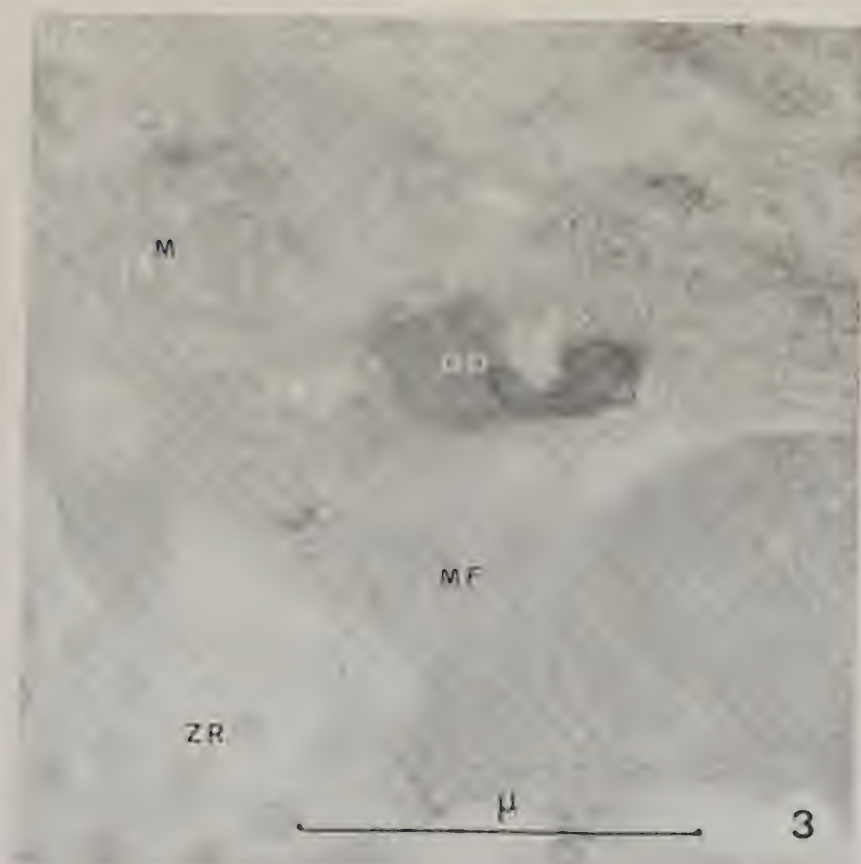
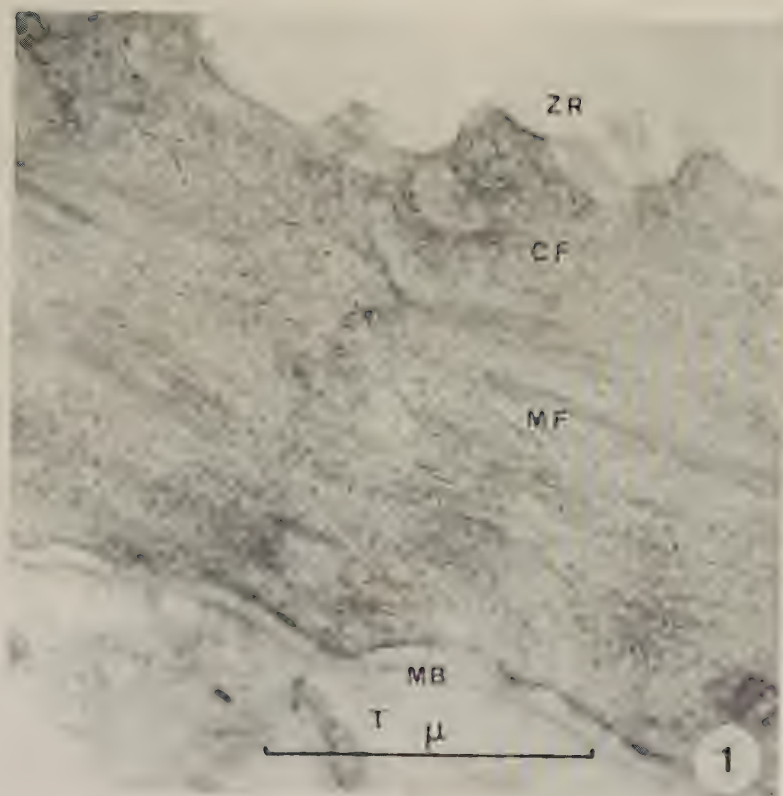


Fig. 1 : Cellules folliculeuses reliées par un desmosome.
Cellule de la thèque (X 40 000).

Fig. 2 : Cellule folliculeuse d'un ovocyte mature, non
reliée à ses voisines et pauvre en microvillosités (X 4 000).

Fig. 3 : Fibres collagènes de la thèque (X 45 000).

Fig. 4 : Cellule de la thèque avec, en particulier, de gros
grains denses (X 35 000).

Fig. 5 : Cellules de l'épithélium de surface bordée par
une membrane basale et contenant de nombreuses
vésicules de pinocytose (X 45 000).

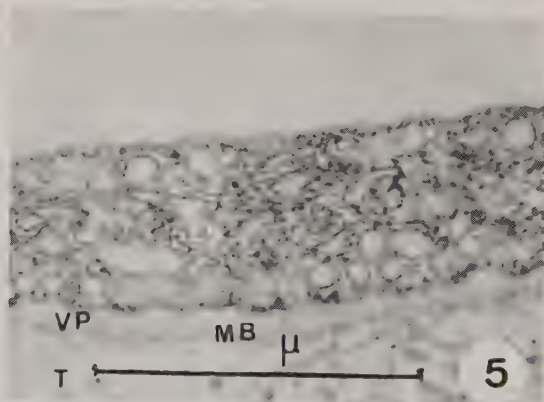
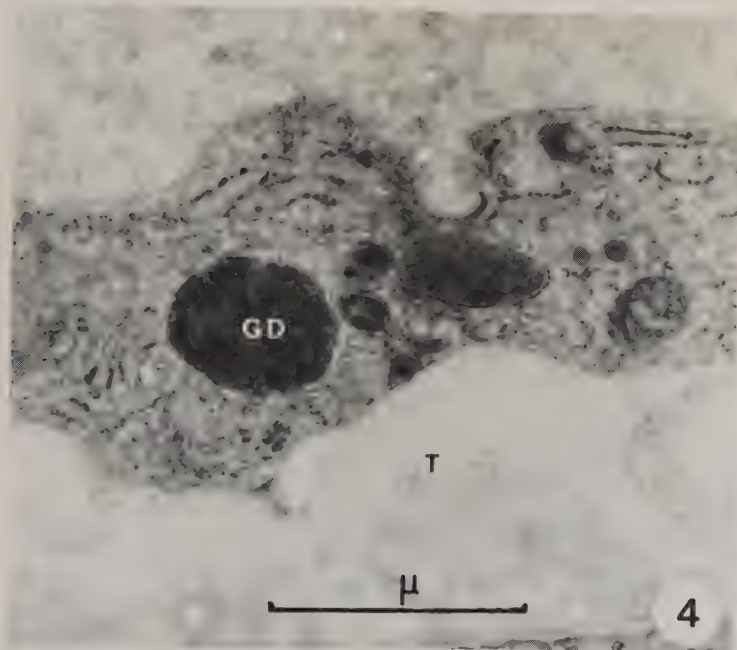
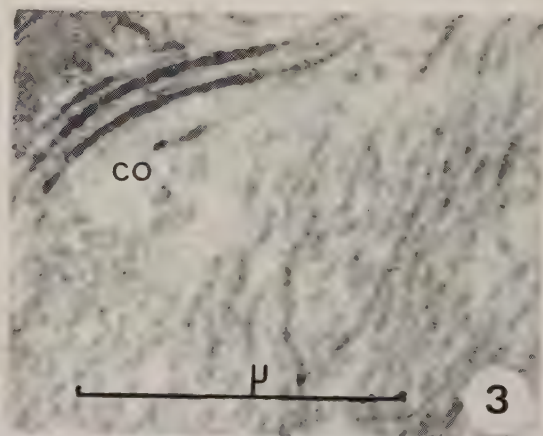


Fig. 1 : "Lysosome" à membrane simple et à contenu hétérogène (X 100 000).

Fig. 2 : "Lysosome" accolé à une zone cytoplasmique claire (X 40 000).

Fig. 3, 4 et 5 : Lysosomes à contenu homogène en relation avec des zones cytoplasmiques en dégénérescence ou myélinisées (X 50 000 et 40 000).

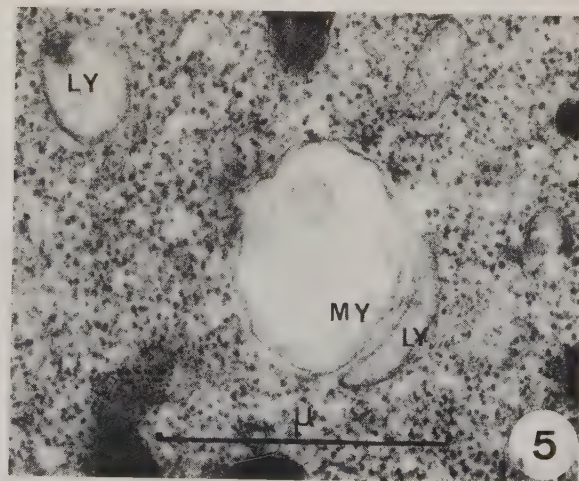
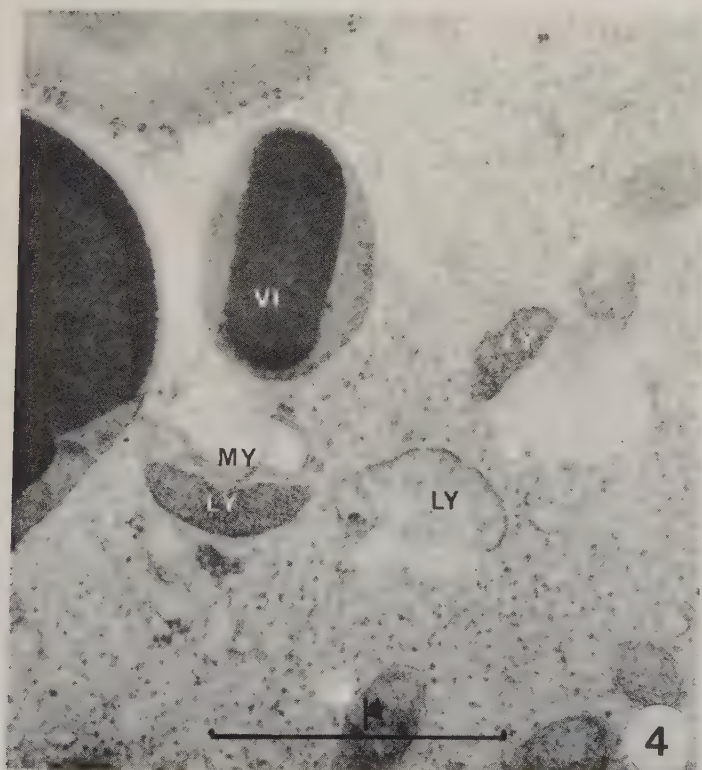
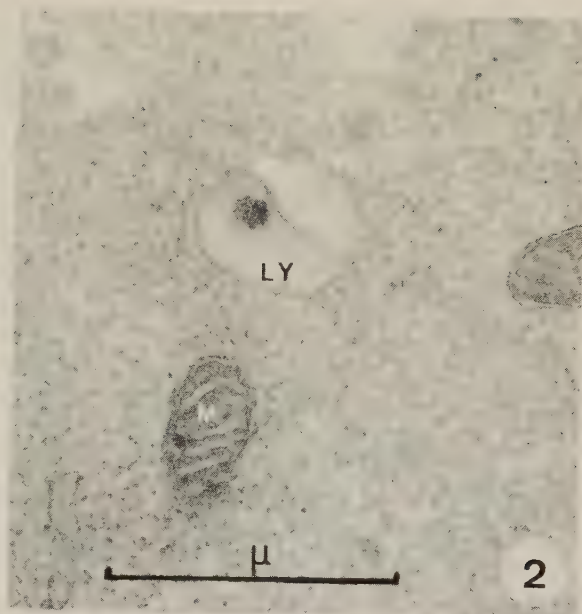
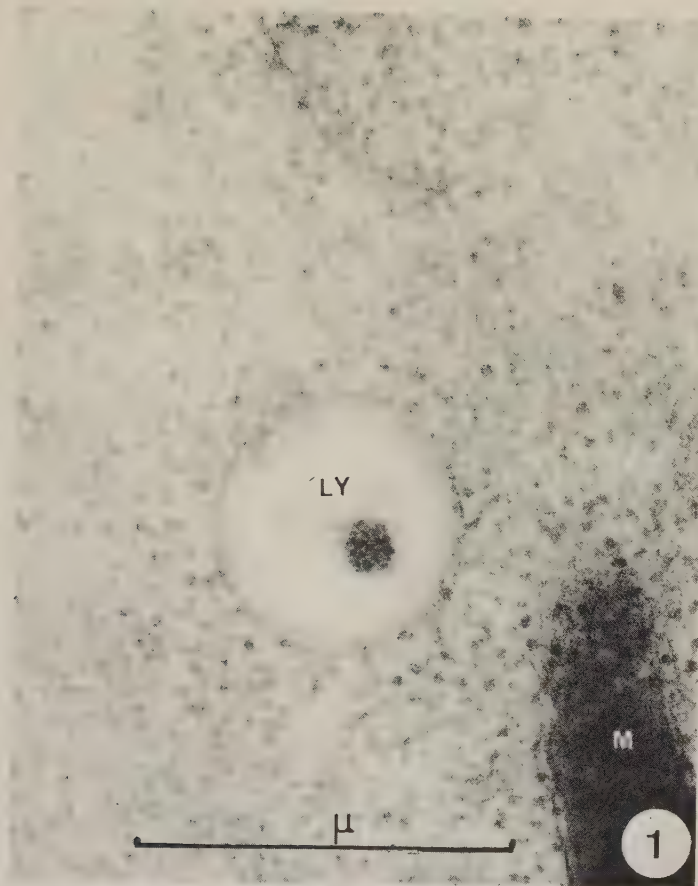


Fig. 1 : Association de microtubules denses en coupe transversale (X 100 000).

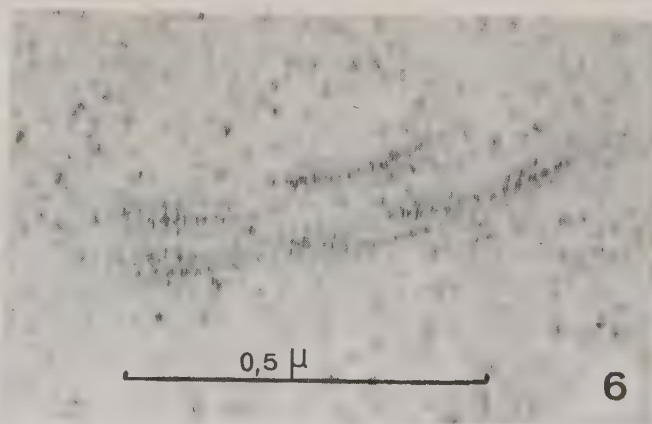
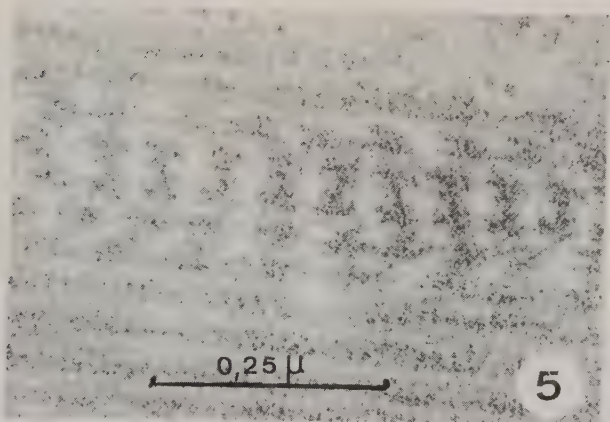
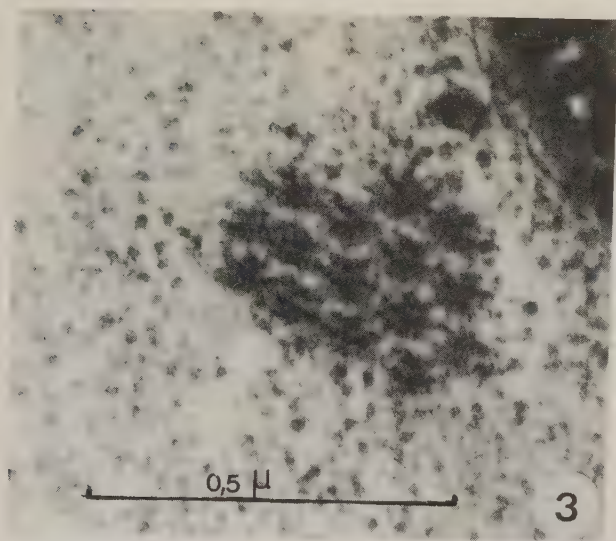
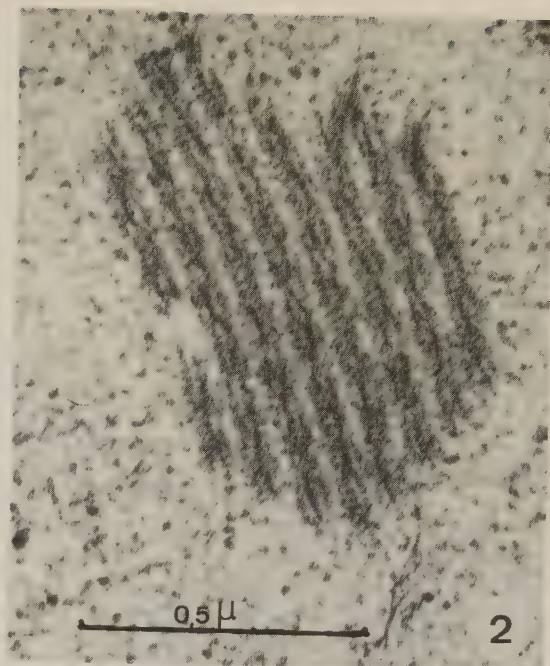
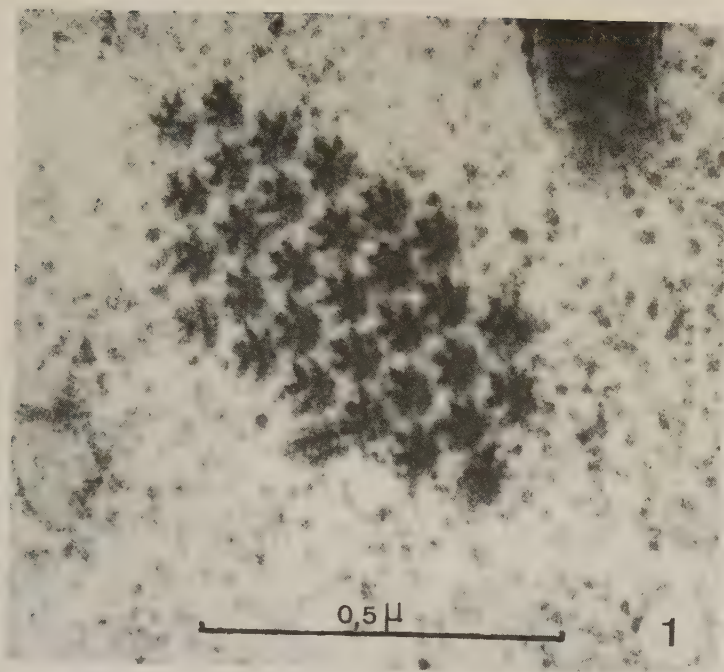
Fig. 2 : Le même organite en coupe longitudinale : sortes de microtubules torsadés (X 80 000).

Fig. 3 : Coupe d'incidence intermédiaire entre les deux précédentes (X 100 000).

Fig. 4 : Organite constitué des deux zones différentes, l'une d'aspect tubulaire et l'autre d'aspect granulaire (X 35 000).

Fig. 5 : Fort grossissement de ces deux zones (X 130000).

Fig. 6 : Fort grossissement d'un fragment de cet organite montrant sa structure granulaire (X 100 000).



PLANCHES XXIII A XLII : L'ATRESIE OVOCYTAIRE

- Planches XXII à XXV : L'atrésie ovocytaire en microscopie optique.
- Planches XXVI à XXX : Evolution du cytoplasme.
- Planches XXXI à XXXIV : Evolution du cortex et du follicule.
- Planches XXXV à XXXIX : Evolution du noyau.
- Planches XL à XLII : Le corps atrétique.

- Fig. 1 : Périphérie d'un ovocyte normal, avec ses cellules folliculeuses aplaties, et d'un ovocyte en début d'atrésie, avec quelques cellules phagocytaires (PAS-Vert de Méthyle) (X 250).
- Fig. 2 : Périphérie d'un ovocyte atrétique : une couche de cellules prismatiques ayant phagocyté des plaquettes vitellines (Mallory) (X 350).
- Fig. 3 : Vésicules dans le cortex d'un ovocyte (Flemming) (X 250).
- Fig. 4 : Grains PAS positifs en avant des cellules phagocytaires et aussi dans ces cellules (PAS-Vert de Méthyle) (X 250).
- Fig. 5 : Ovocyte en début d'atrésie : une couche de cellules phagocytaires, noyau excentrique à contenu granuleux, cytoplasme d'aspect hétérogène et cytolysé (PAS - Vert de Méthyle) (X 50).
- Fig. 6 : Nucléole dans le noyau d'un ovocyte atrétique (Flemming) (X 1 200).

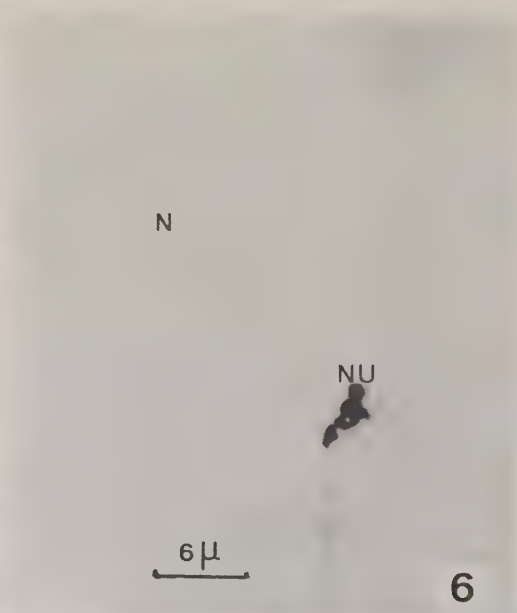
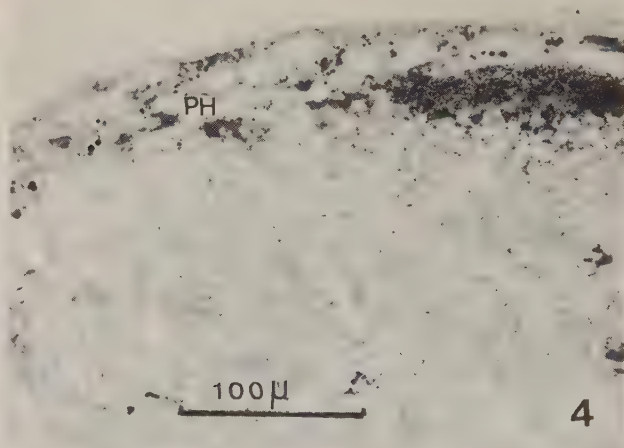
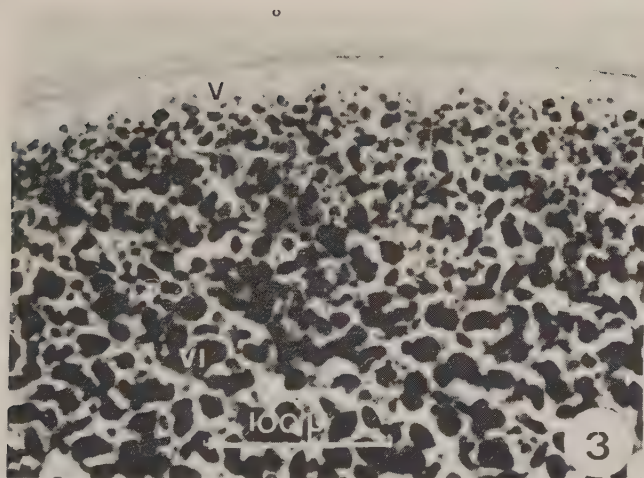
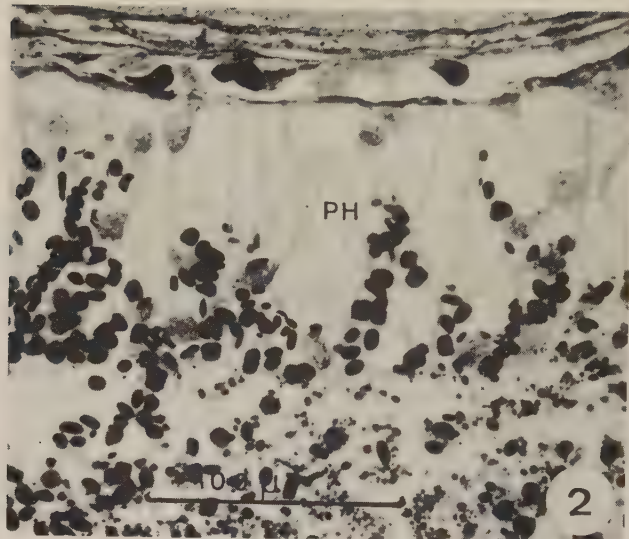
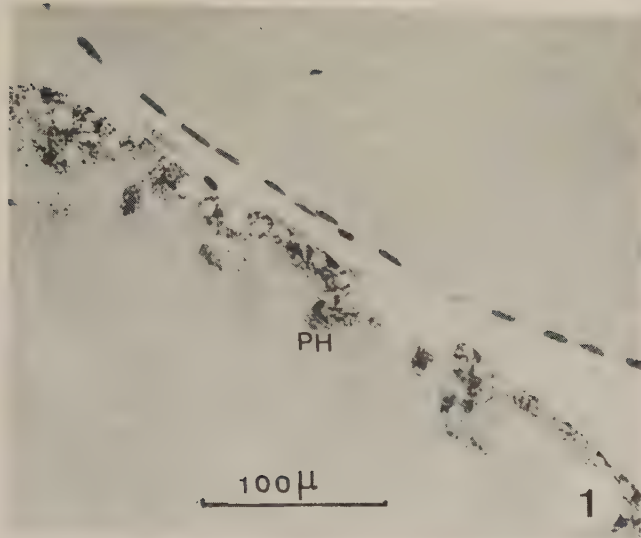


Fig. 1 : Corps atrétique très pigmenté (mélanine) (Flemming) (X 100).

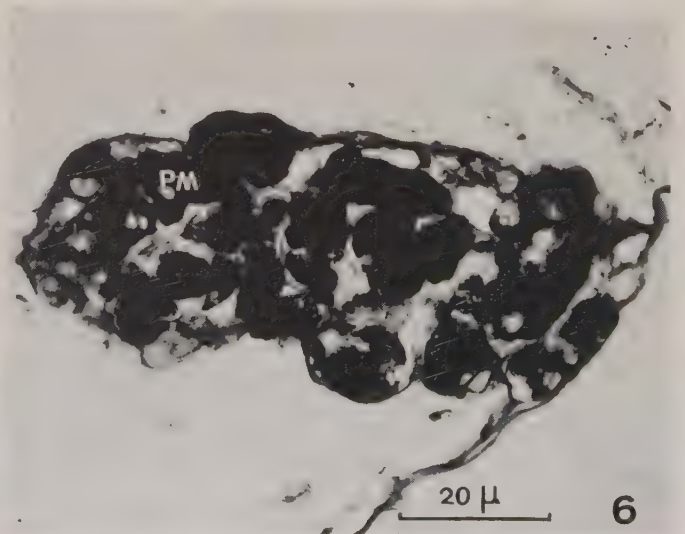
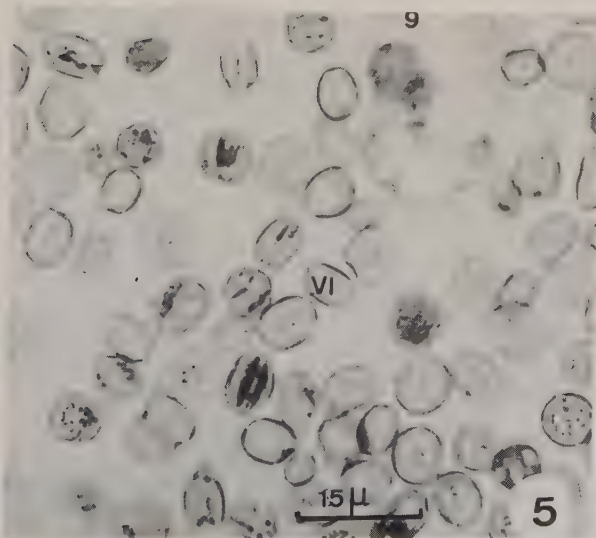
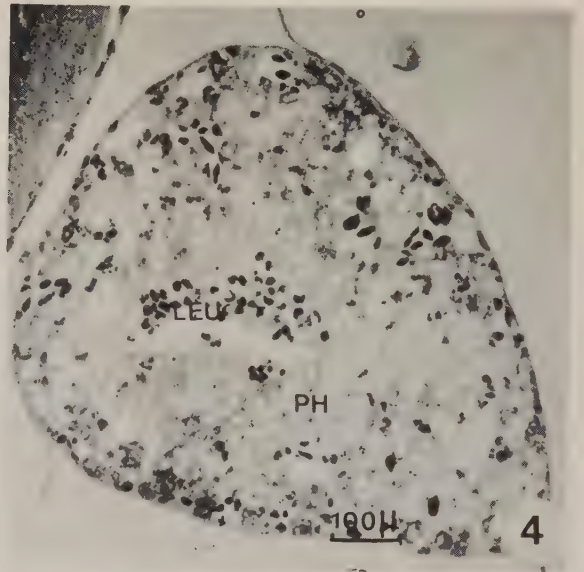
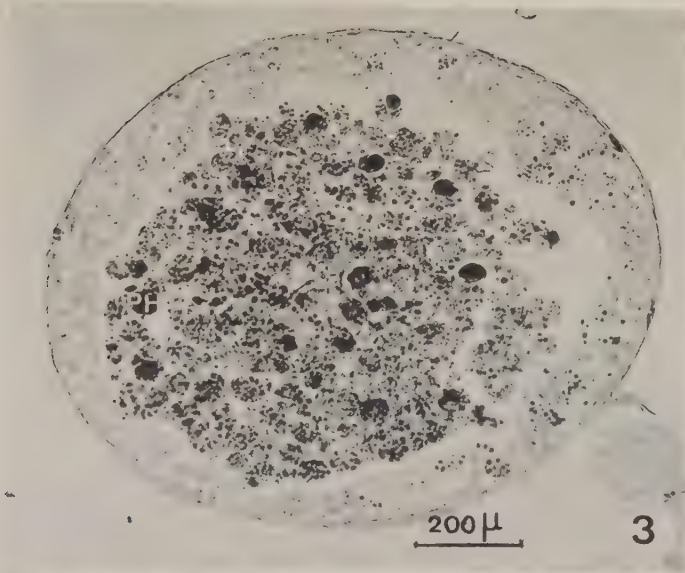
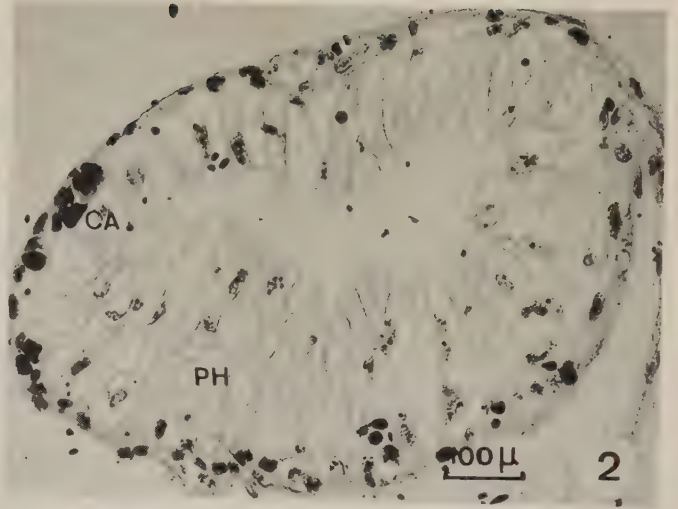
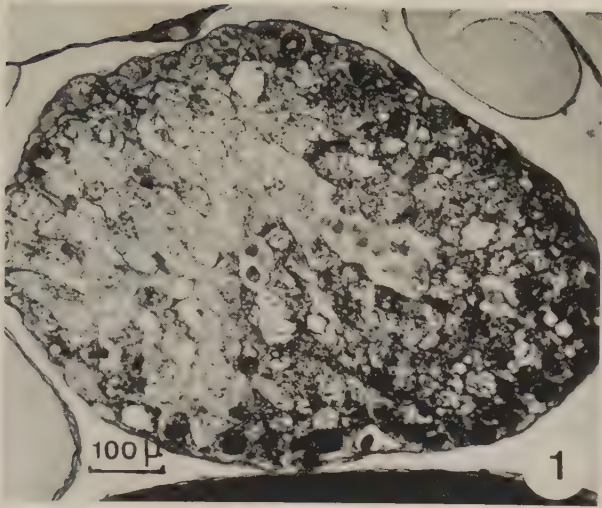
Fig. 2 : Corps atrétique provenant d'un ovocyte de taille moyenne : cellules jointives d'aspect spongieux, capillaires très nombreux (Flemming) (X 100).

Fig. 3 : Corps atrétique provenant d'un ovocyte mature : nombreuses cellules isolées contenant du vitellus en dégénérescence (Safranine - Bleu de Méthyle - Orange G) (X 70).

Fig. 4 : Corps atrétique identique à celui de la fig. 2, mais contenant en plus de nombreux leucocytes (Flemming) (X 100).

Fig. 5 : Plaquettes vitellines en dégénérescence dans un corps atrétique (Bleu de Toluidine) (X 1 000).

Fig. 6 : Corps atrétique en fin d'évolution (X 300).



- Fig. 1 : Jeunes ovocyte sans vitellus dont le cortex est occupé par des vésicules et dont les nucléoles sont fragmentés (Flemming) (X 250).
- Fig. 2 : Jeune ovocyte sans vitellus contenant quelques cellules phagocytaires (Flemming) (X 250).
- Fig. 3 : Ovocytes envahis par un parasite (Safranine - Bleu de Méthyle - Orange G) (X 70).
- Fig. 4 : Corps atrétique d'origine parasitaire (Safranine - Bleu de Méthyle - Orange G) (X 70).
- Fig. 5 et 6 : Corps jaune montrant deux zones concentriques distinctes dont la plus interne est en voie de dégénérescence (Safranine - Bleu de Méthyle - Orange G et PAS-Vert de Méthyle) (X 200).

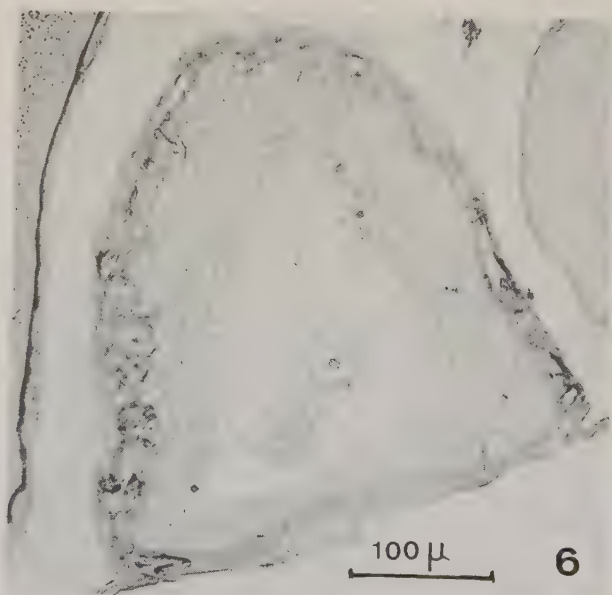
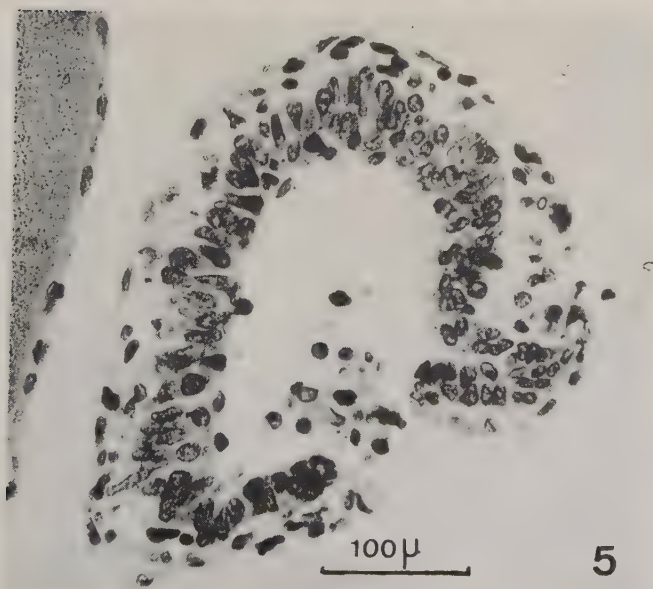
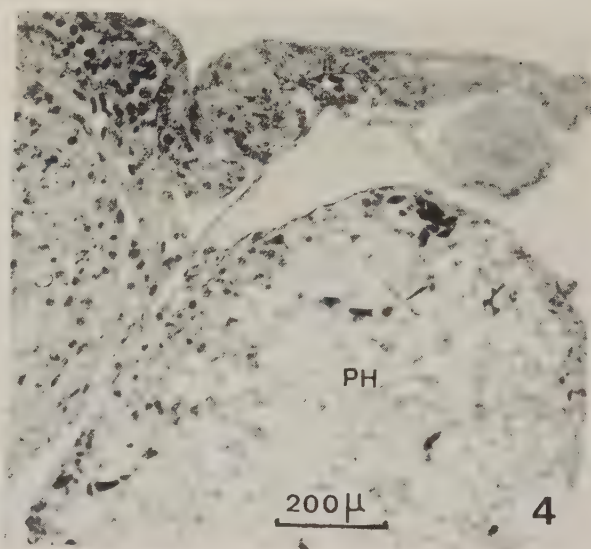
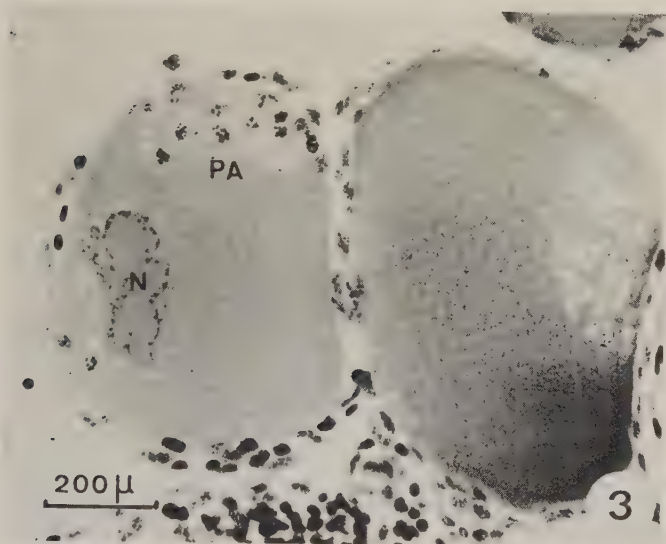
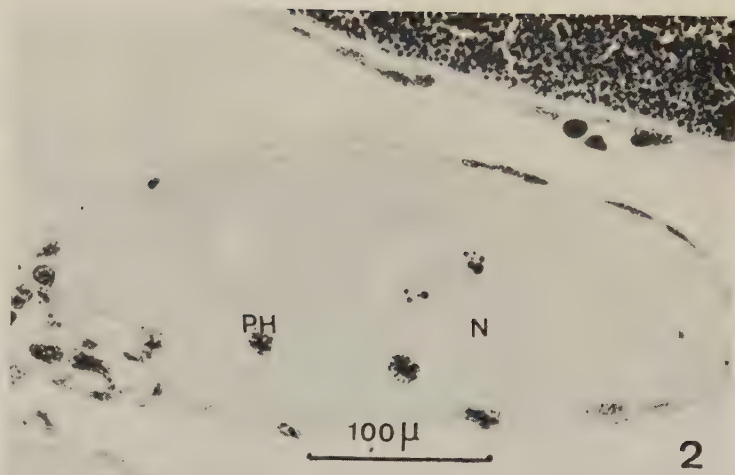
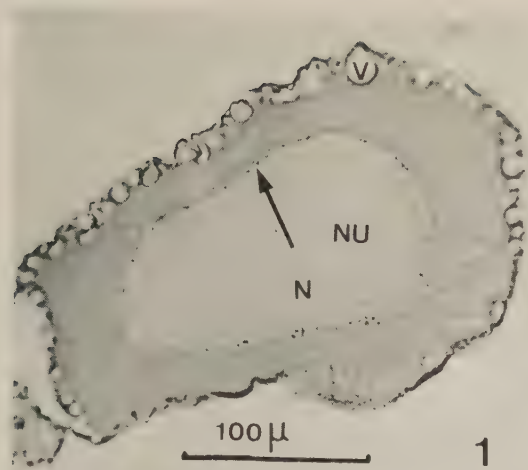


Fig. 1 : Vacuole de cytolyse dans le cytoplasme cortical
d'un ovocyte (X 13 000).

Fig. 2 : Vacuole bordée par une membrane et contenant
des formations myéliniques (X 50 000).

Fig. 3 : Vacuole non limitée par une membrane et conte-
nant des vésicules (X 35 000).

Fig. 4 : Formation des vésicules à la périphérie d'une
vacuole de cytolyse (X 70 000).

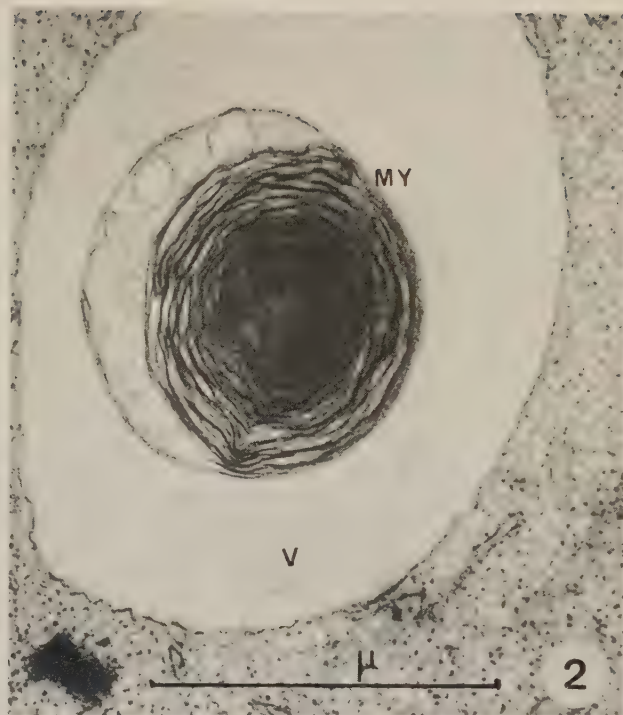
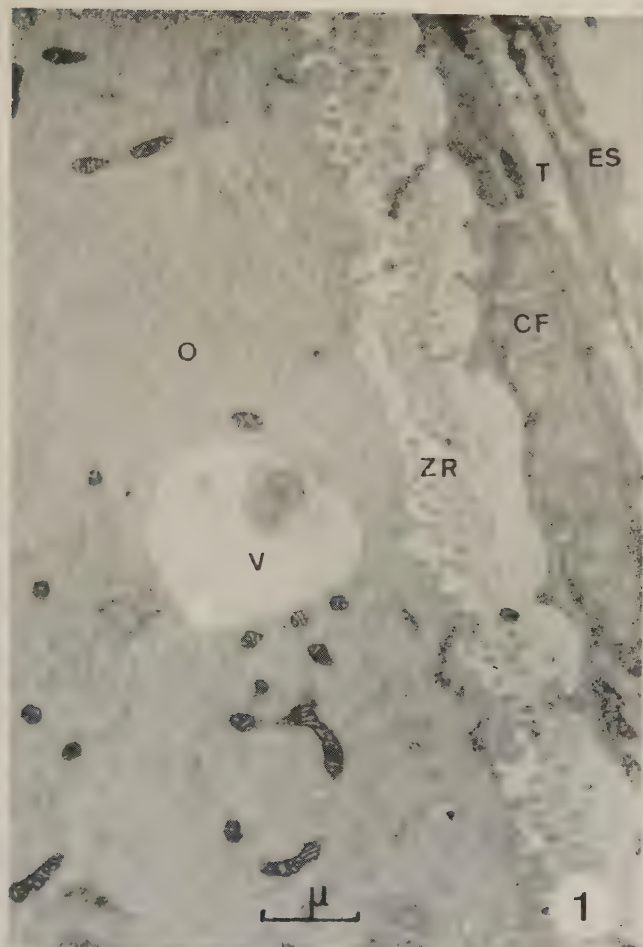


Fig. 1 et 2 : Dégénérescence de mitochondries à la surface des vacuoles de cytolyse (X 50 000 et 45 000).

Fig. 3 : Plaquette vitelline fournissant des formations myéliniques au contact d'une vacuole (X 50 000).

Fig. 4 : Formation d'une vacuole de cytolyse par fusion de vacuoles plus petites (X 32 000).

Fig. 5 : Vacuole de cytolyse ouverte dans la *zona radiata* (X 32 000).

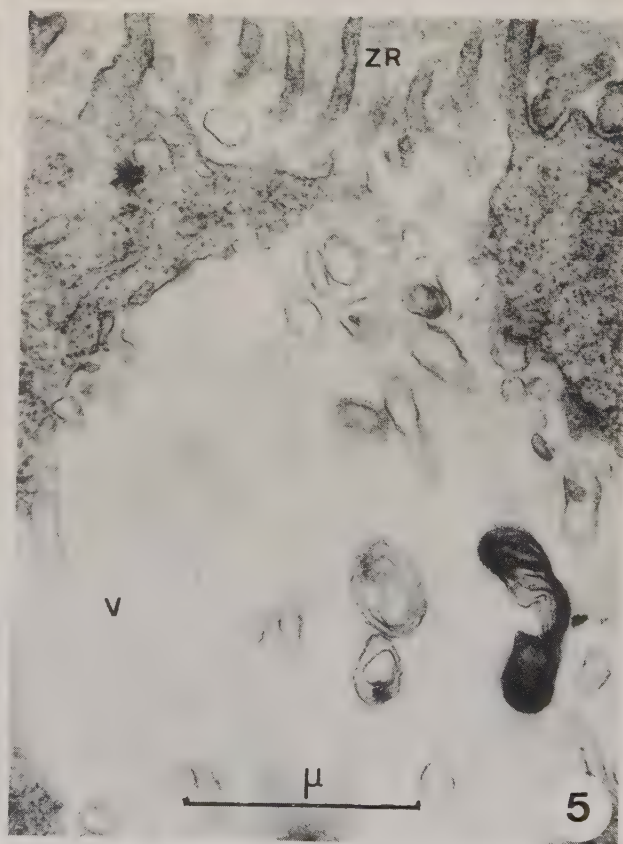
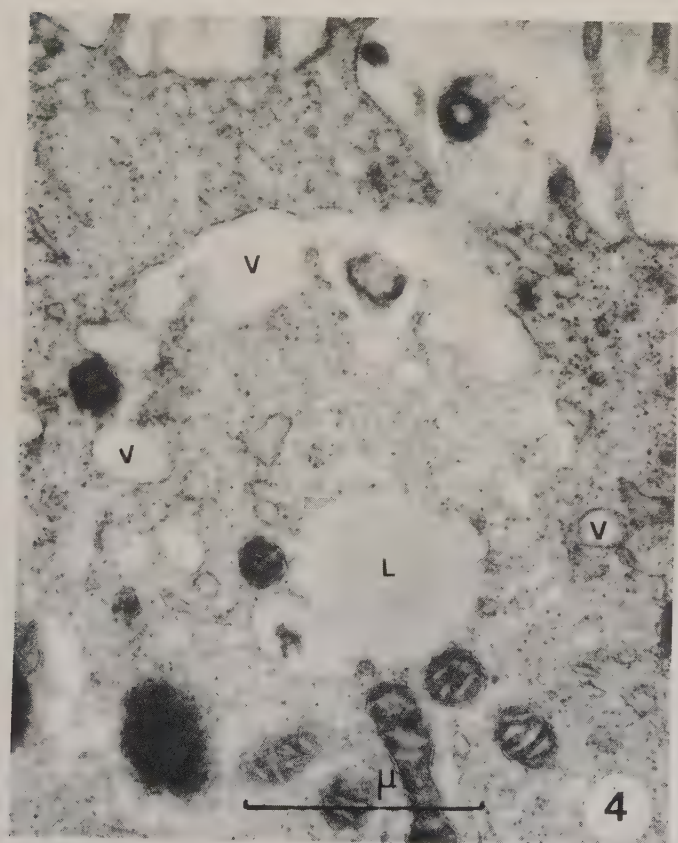
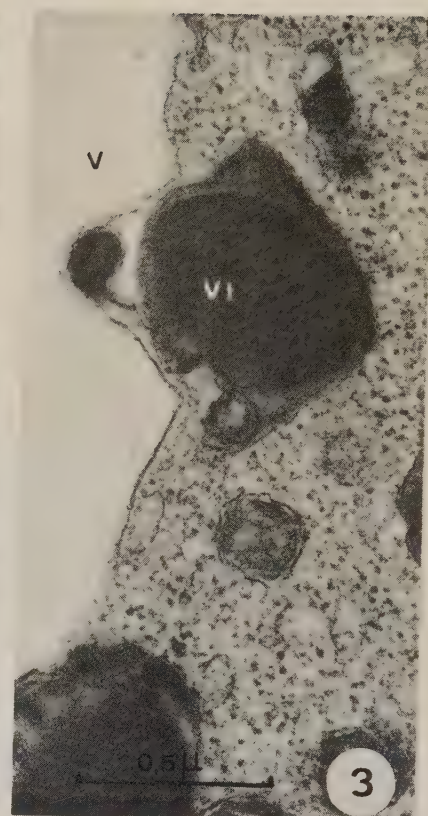
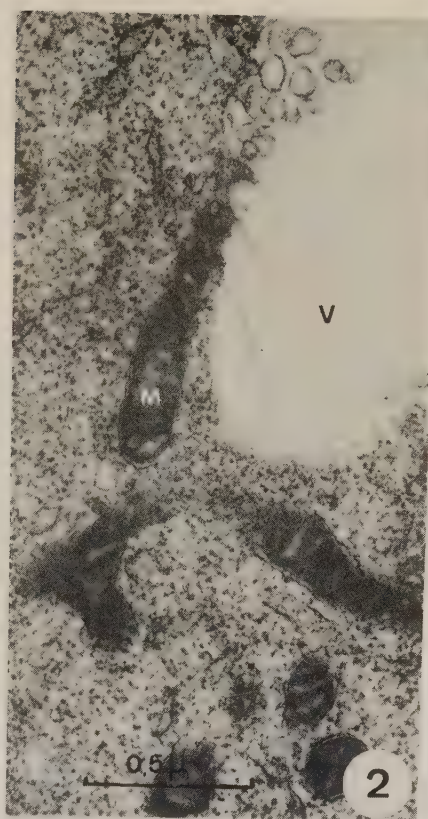


Fig. 1 : Vacuoles de cytolyse de taille différente dans le cytoplasme d'un ovocyte atrétique (X 15 000).

Fig. 2 : Vacuoles de cytolyse de grande dimension (X 7 000).

Fig. 3 : Fort grandissement de la précédente montrant les ribosomes en chaînettes contenu dans cette vacuole (X 60 000).

Fig. 4 : Gonflement des saccules de réticulum endoplasmique (X 25 000).

Fig. 5 : Saccules de réticulum gonflés et contenant un matériel spumeux (X 45 000).

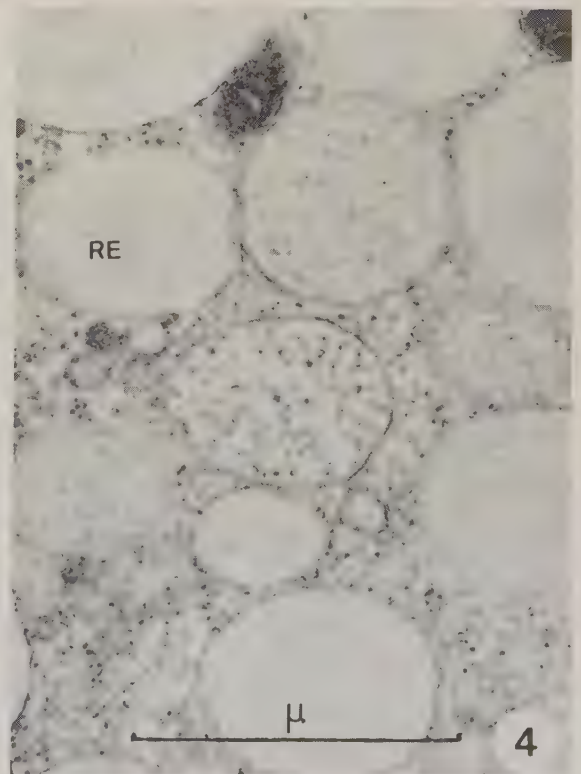
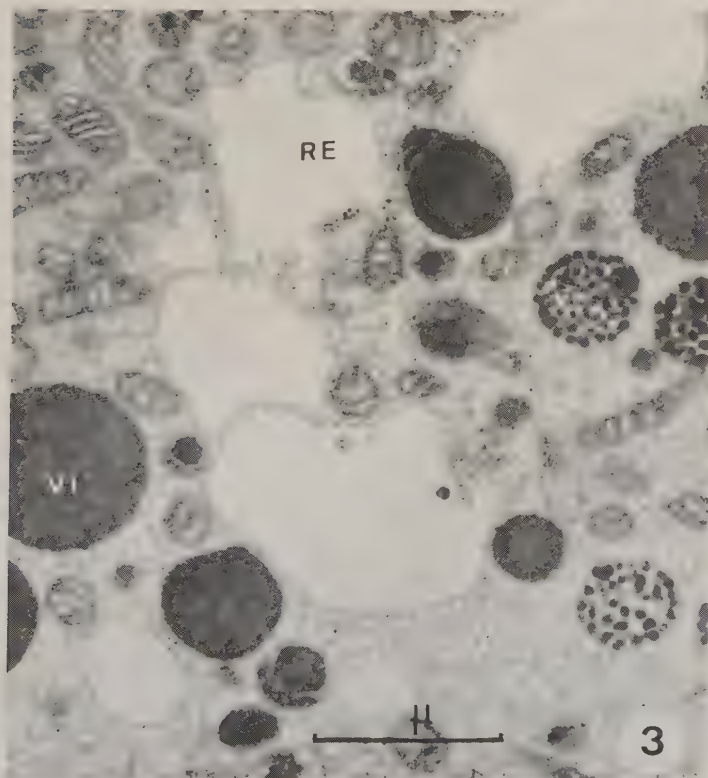
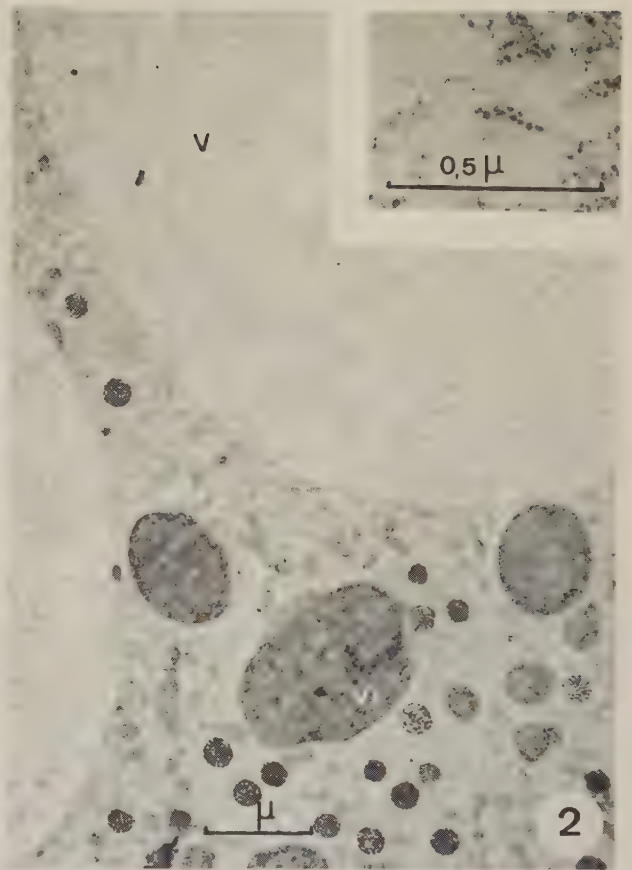
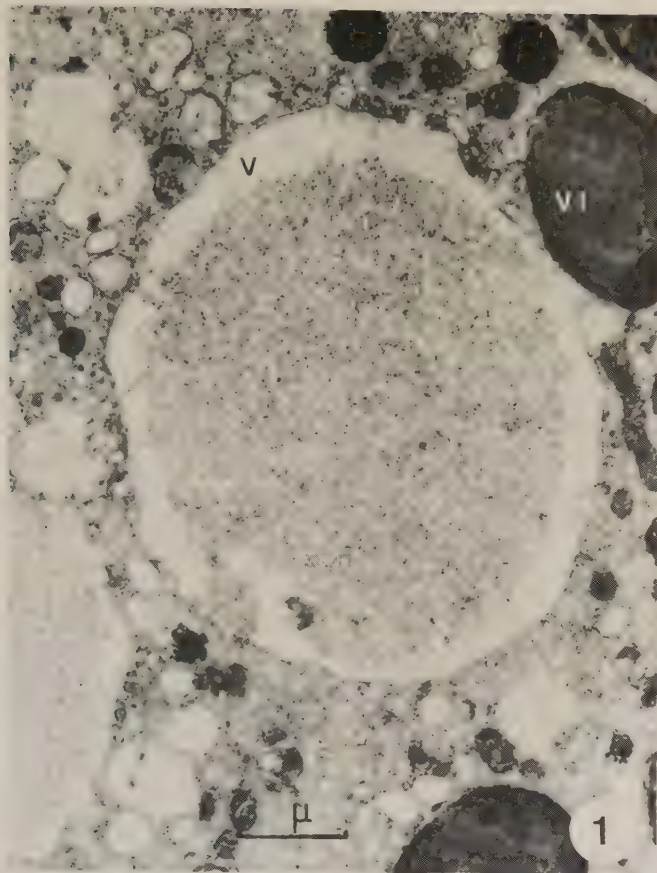


Fig. 1 : Modification de la taille des granules contenus dans les saccules de réticulum (X 60 000).

Fig. 2 : Grains de mélanine avec intermédiaire possible (flèche) entre eux et les granules précédents (X 35 000).

Fig. 3 : Gonflement des vésicules formées par les lamelles annelées dans l'ovocyte atrétique (X 25 000).

Fig. 4 : Gonflement d'un dictyosome dans l'ovocyte atrétique (X 45 000).

Fig. 5 : Nouveau type de mitochondrie apparaissant lors de l'atrésie (X 80 000).

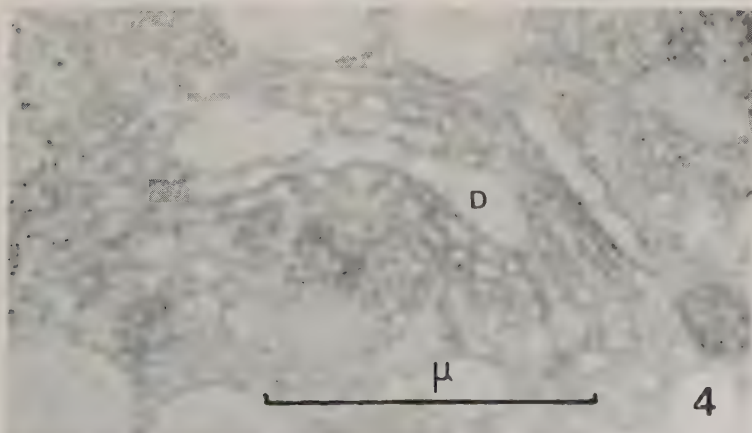
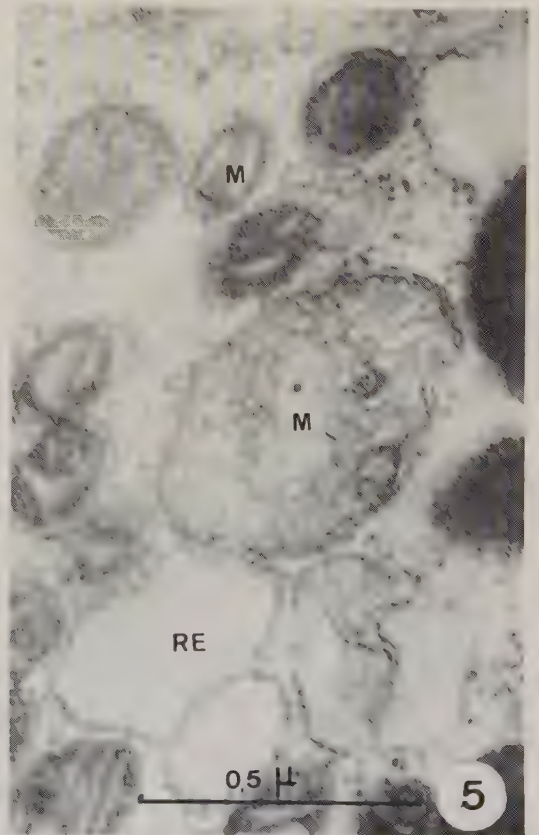
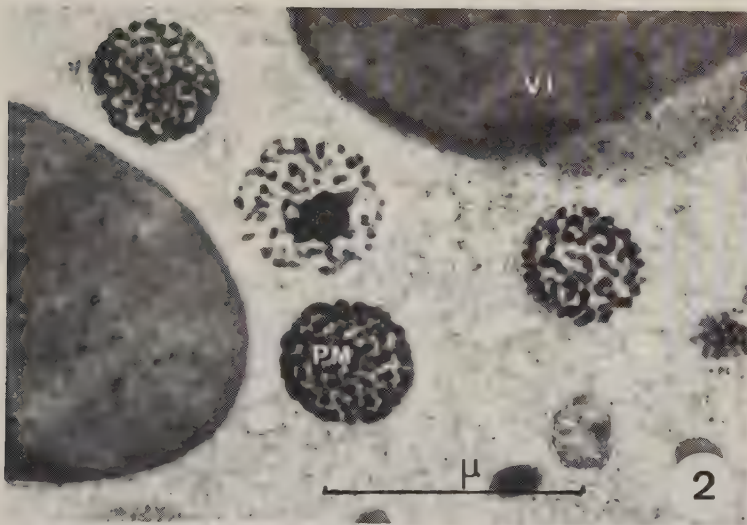
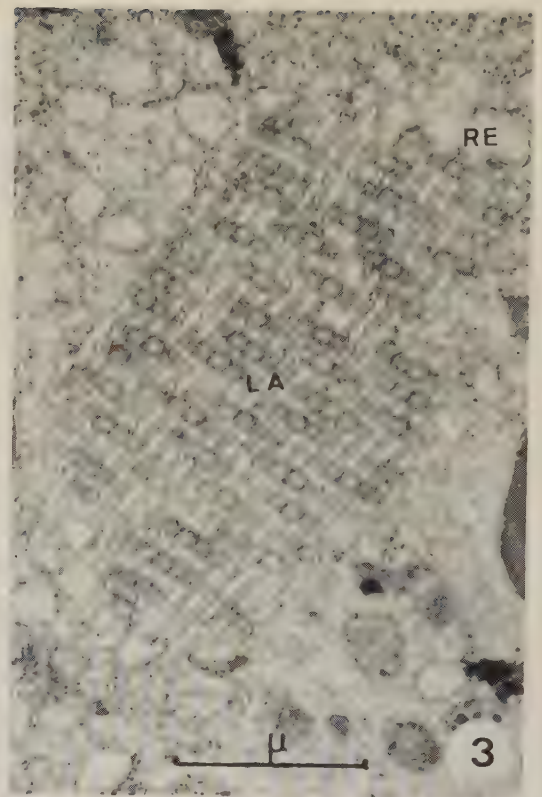
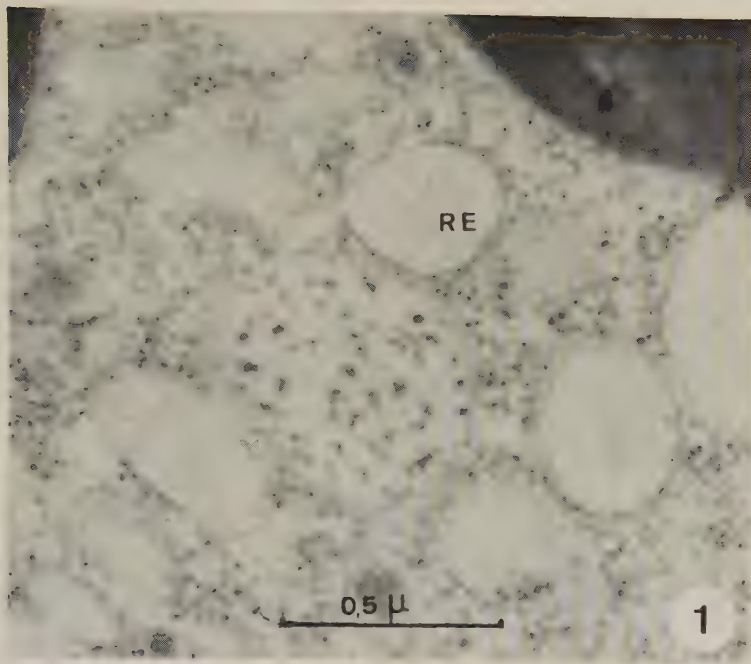


Fig. 1 : Dégénérescence des mitochondries lors de l'atrésie (X 40 000).

Fig. 2 : Dégénérescence du cytoplasme fondamental : présence de fragments de microtubules (X 15 000).

Fig. 3 : Autre type de dégénérescence dans le cytoplasme : pinceaux de microfilaments (X 22 000).

Fig. 4 : Diminution de la densité des éléments du cytoplasme lors de l'atrésie (X 35 000).

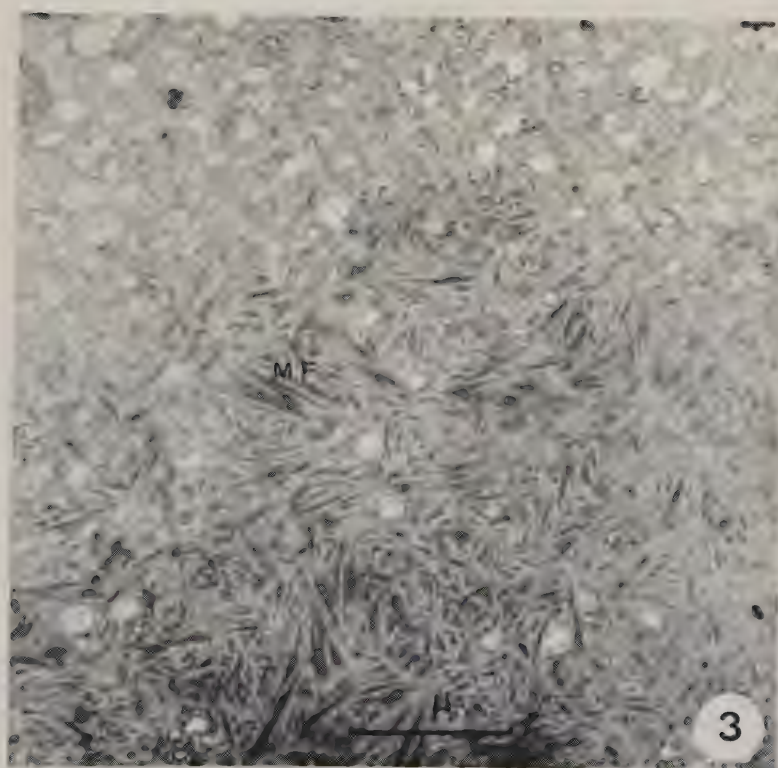
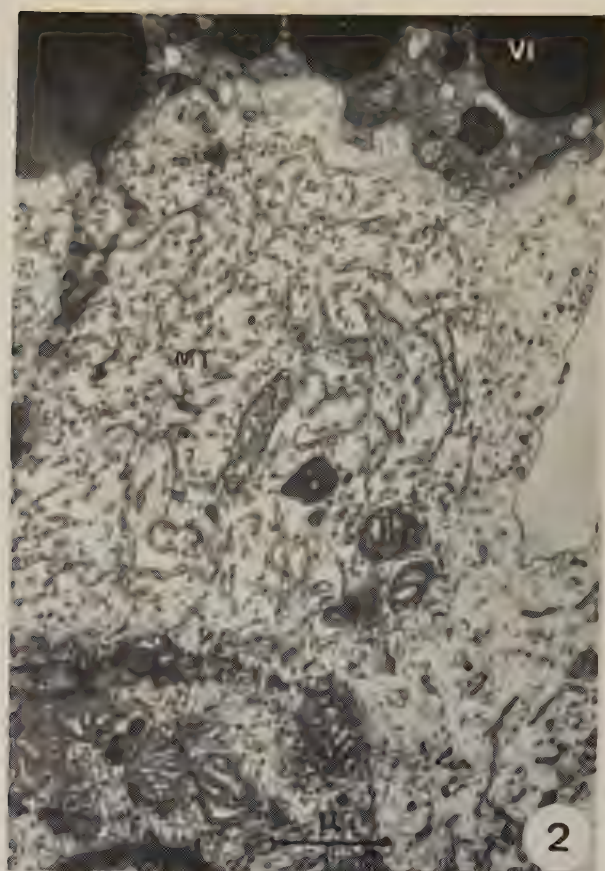


Fig. 1 : Cortex d'un ovocyte en début d'atrésie, montrant
une zone externe dense (X 22 000).

Fig. 2 : Fort grossissement de la précédente : zone externe
dense formée d'un enchevêtrement de microfilaments (X 60 000).

Fig. 3 : Microvillosités du même ovocyte se rétractant
(X 80 000).

Fig. 4 : Microvillosités rompues à la base et couchées sur
la surface de l'ovocyte (X 22 000).

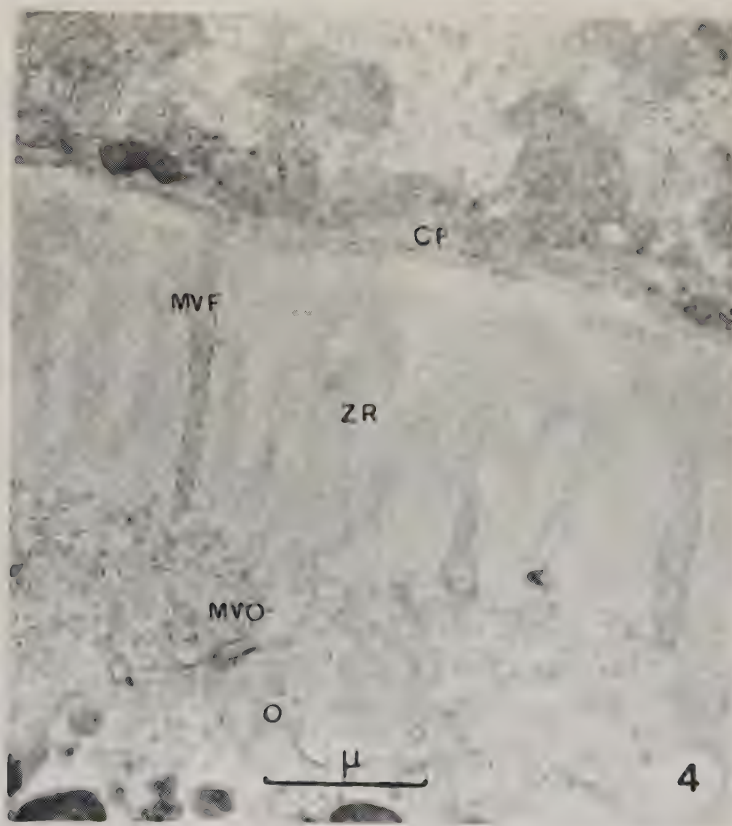
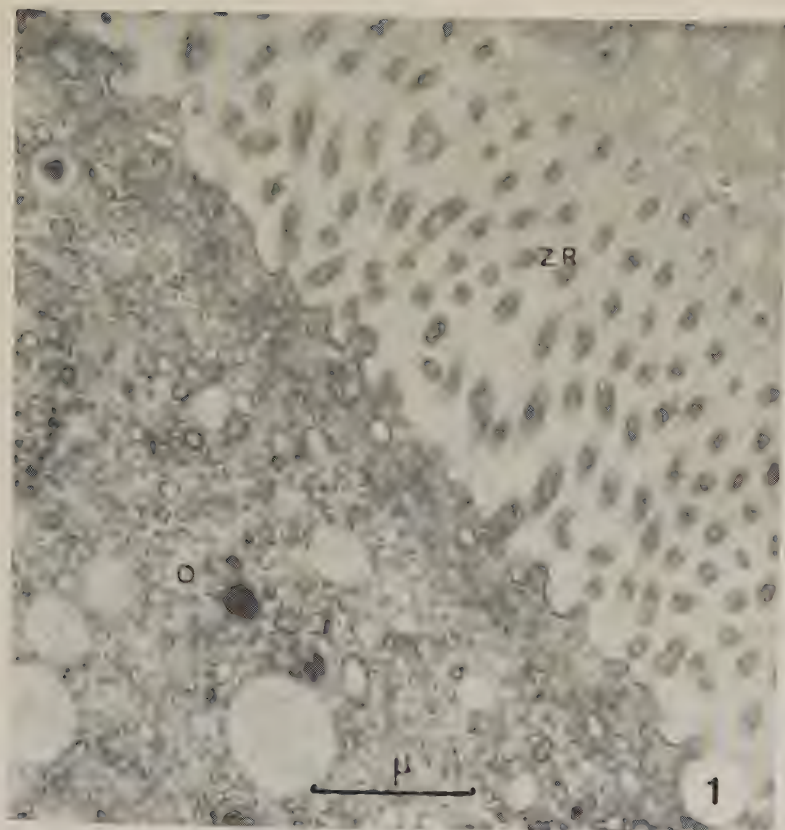
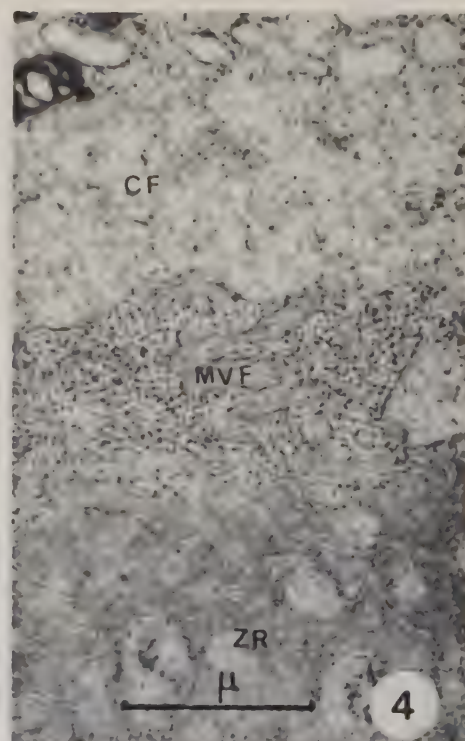
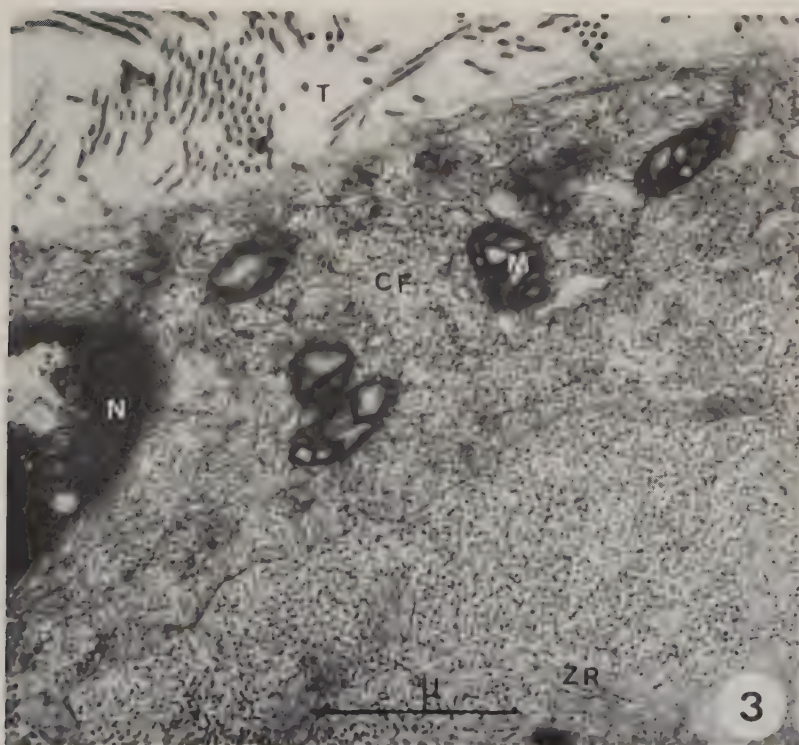
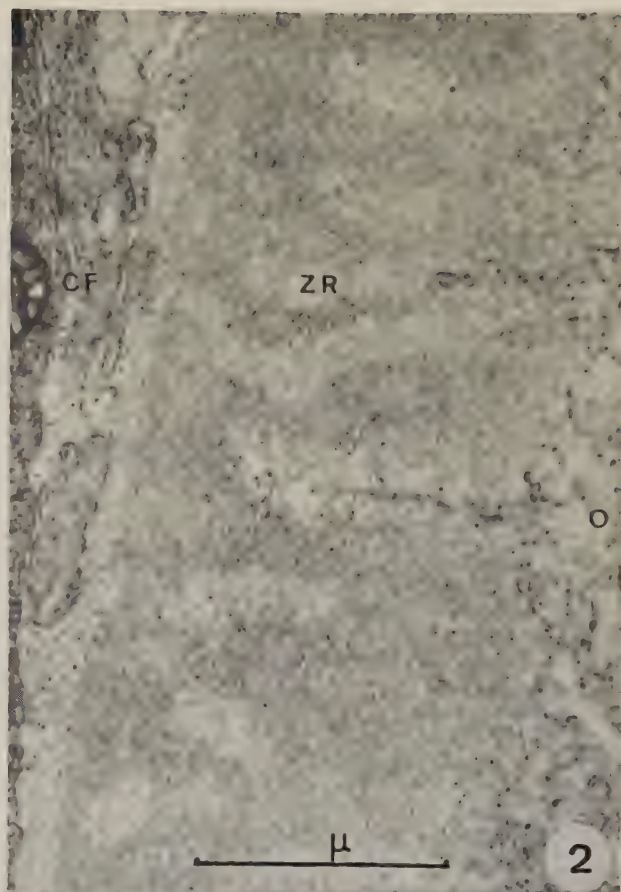
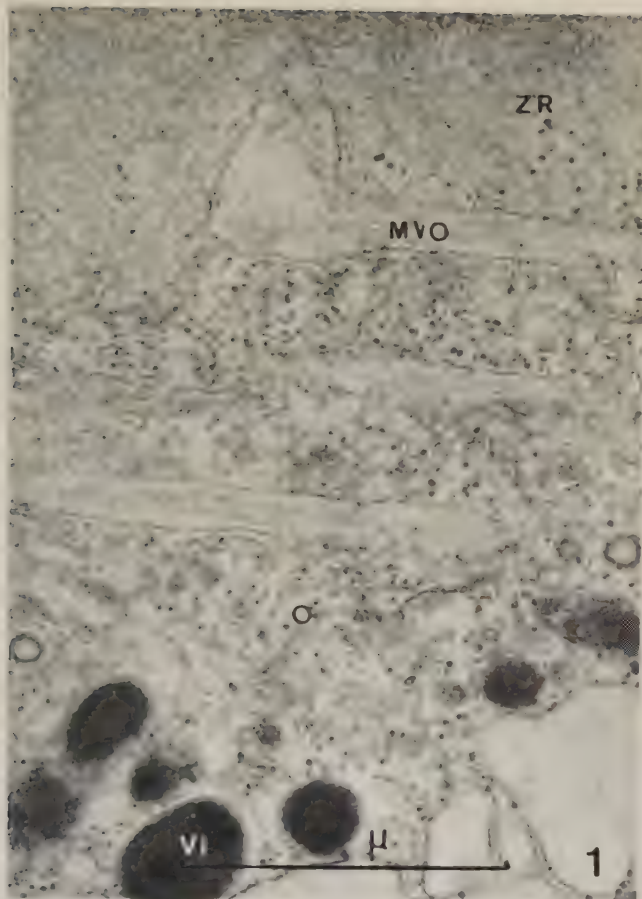


Fig. 1 : Microvillosités couchés à la surface de l'ovocyte dont la membrane plasmique est discontinue. Grains s'échappant de l'ovocyte vers la *zona radiata* (X 45 000).

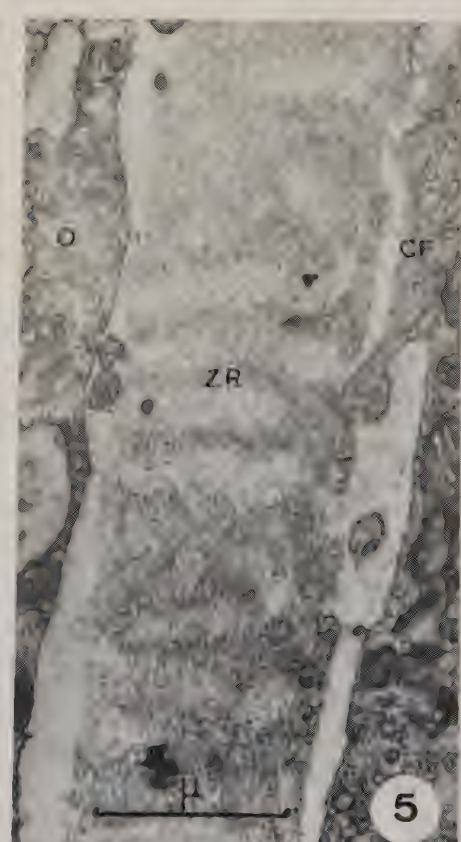
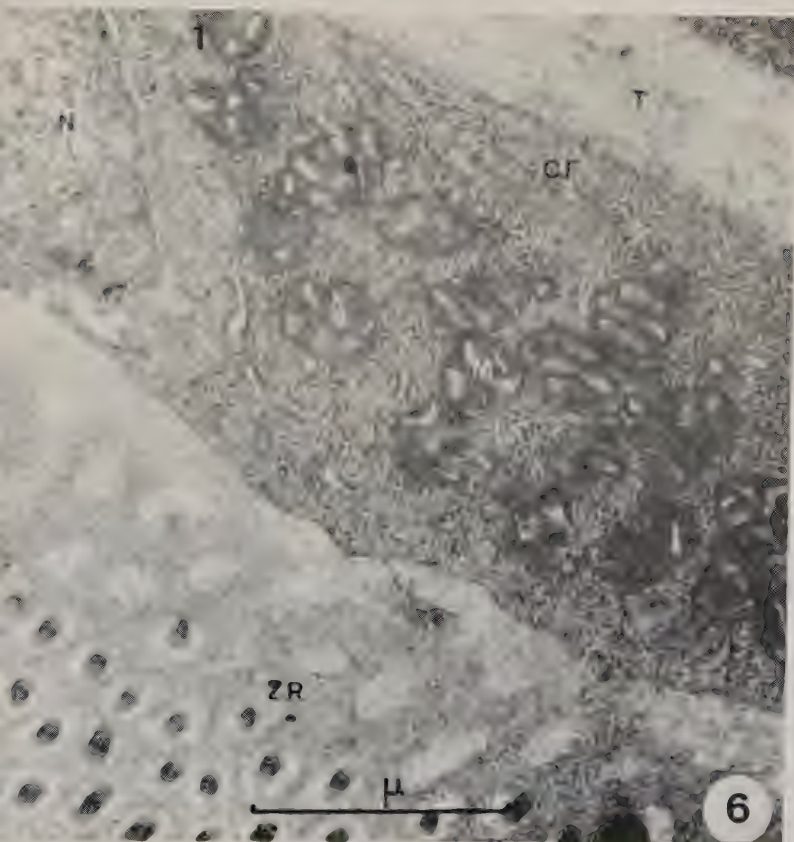
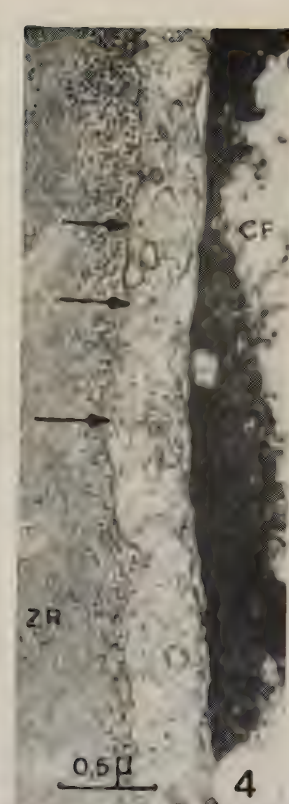
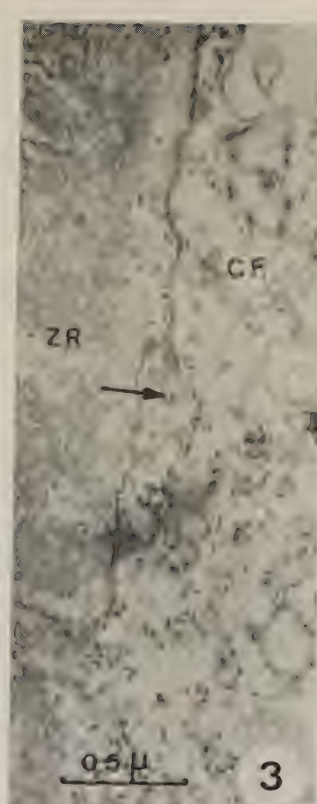
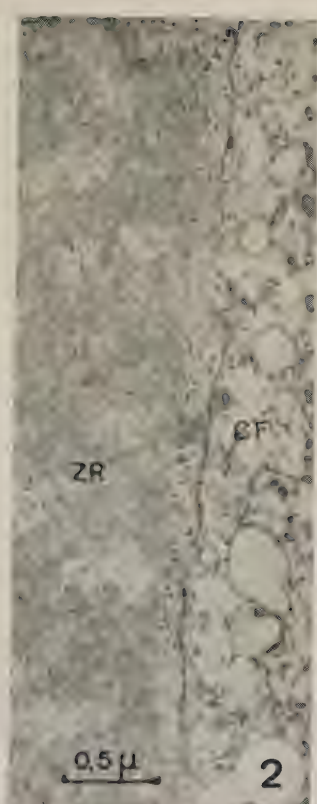
Fig. 2 : *Zona radiata* ne contenant plus que les traces des microvillosités. Migration des grains à travers la *zona radiata* (X 35 000).

Fig. 3 : Accumulation de ces grains le long des cellules folliculeuses (X 26 000).

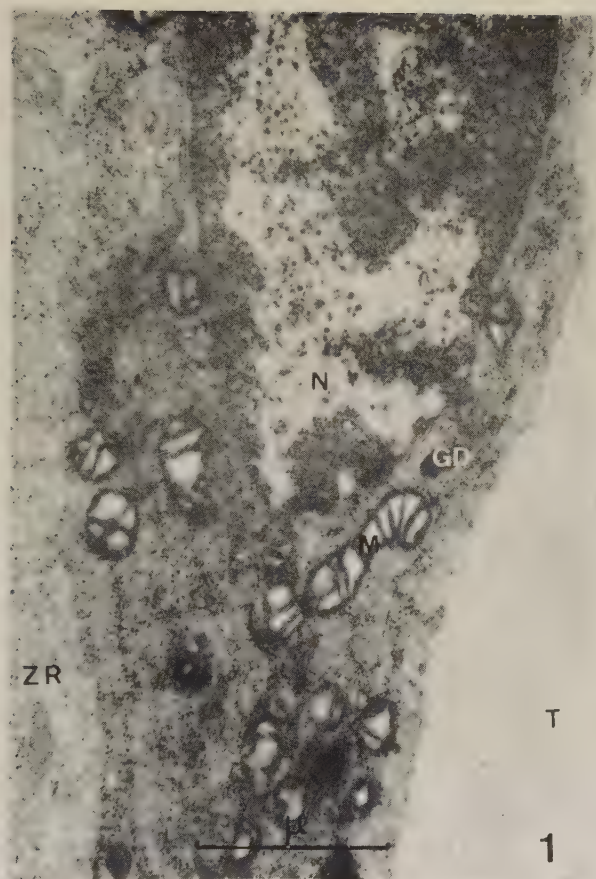
Fig. 4 : Disparition des microvillosités de la cellule folliculeuse et rupture de sa membrane (X 26000);



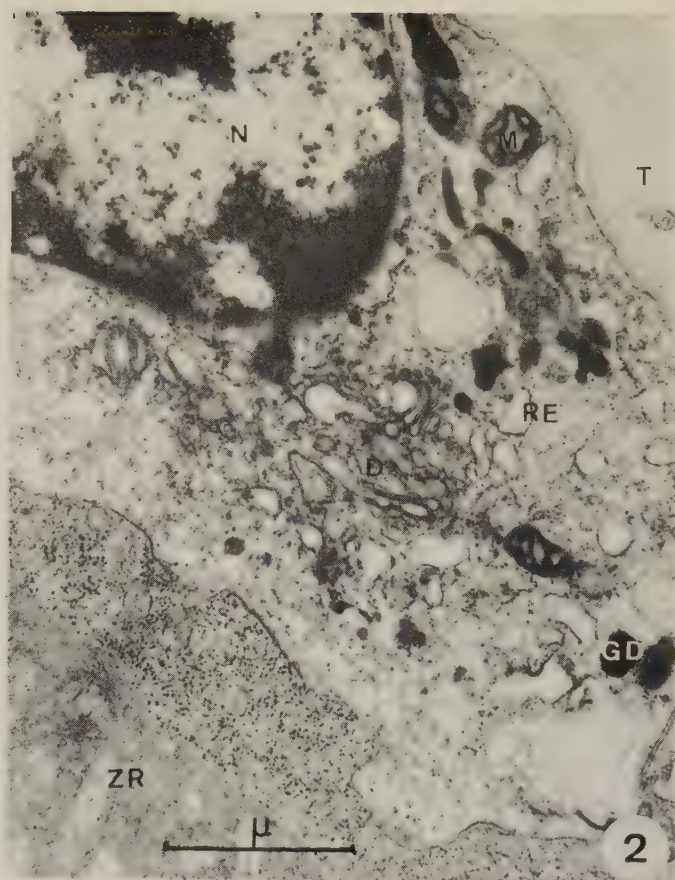
- Fig. 1 à 4 : Activité pinocytotique importante à la surface des cellules folliculeuses et présence de grains dans ces vésicules de pinocytose (X 26 000 et 35 000).
- Fig. 5 : Absence de grains dans la *zona radiata* à la fin de ce processus ; l'ovocyte et la cellule folliculeuse n'ont plus de microvillosités (X 35 000).
- Fig. 6 : Cellule folliculeuse normale avant le début du processus atrétique (X 26 000).



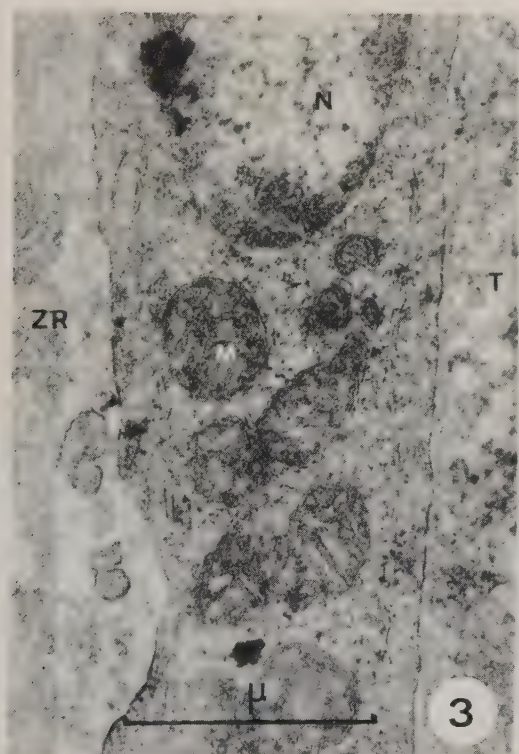
- Fig. 1 : Cellule folliculeuse au moment où les grains venus de l'ovocyte s'accumulent à son contact (X 26 000).
- Fig. 2 : Aspect de la cellule folliculeuse lorsqu'elle absorbe les grains présents dans la *zona radiata* (X 26 000).
- Fig. 3 : Aspect de la cellule folliculeuse à la fin de ce processus quand tous les grains sont disparus de la *zona radiata* (X 34 000).
- Fig. 4 : Dernier stade de l'évolution de la cellule folliculeuse transformée en cellule phagocytaire, la *zona radiata* ayant complètement disparue (X 26000).



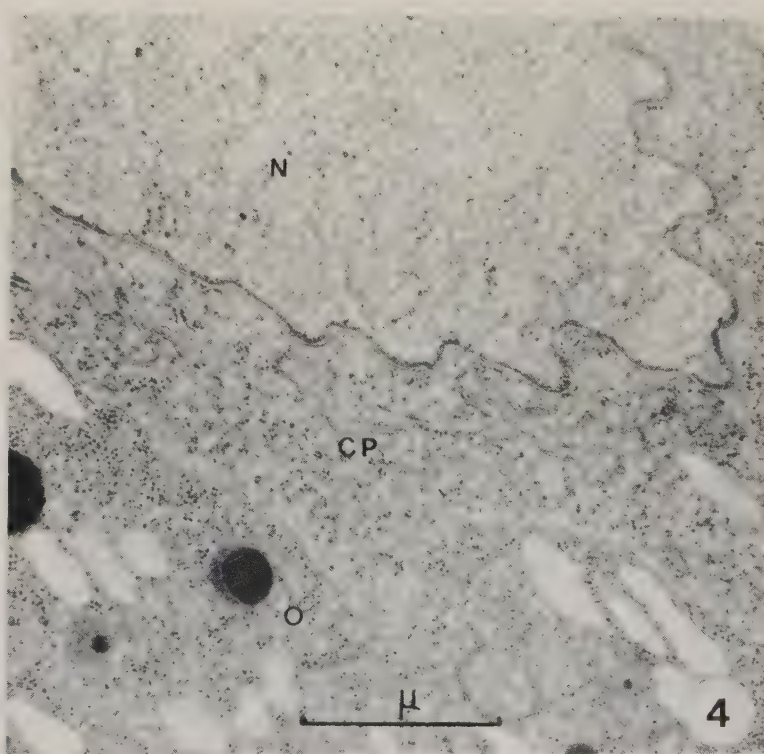
1



2



3



4

Fig. 1 et 2 : Ségrégation du matériel fibrillaire à partir de nucléoles d'un ovocyte atrétique (X 35 000).

Fig. 3 : Fort grossissement d'une même zone (X 60000).

Fig. 4 : Nucléole dans son ensemble : échancrures périphériques et vacuoles contenant de gros grains denses (X 15 000).

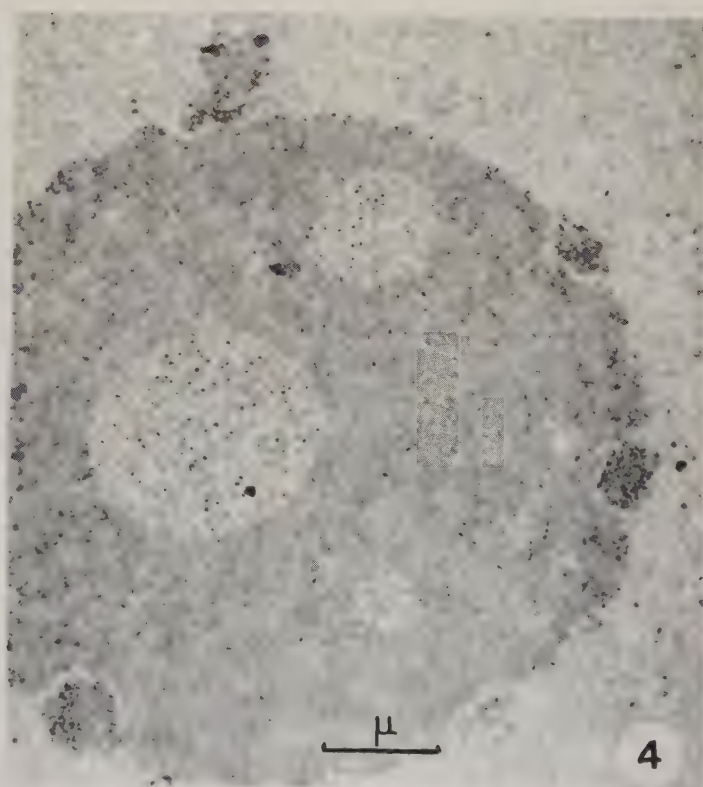
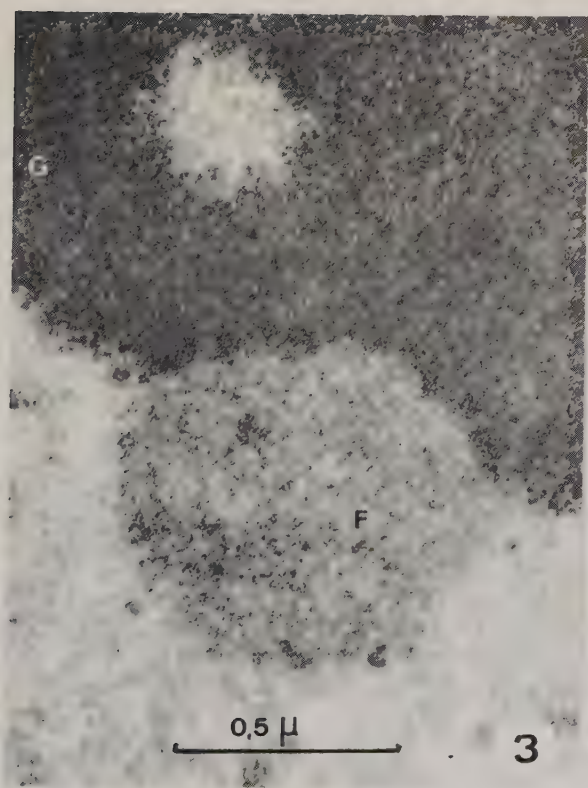
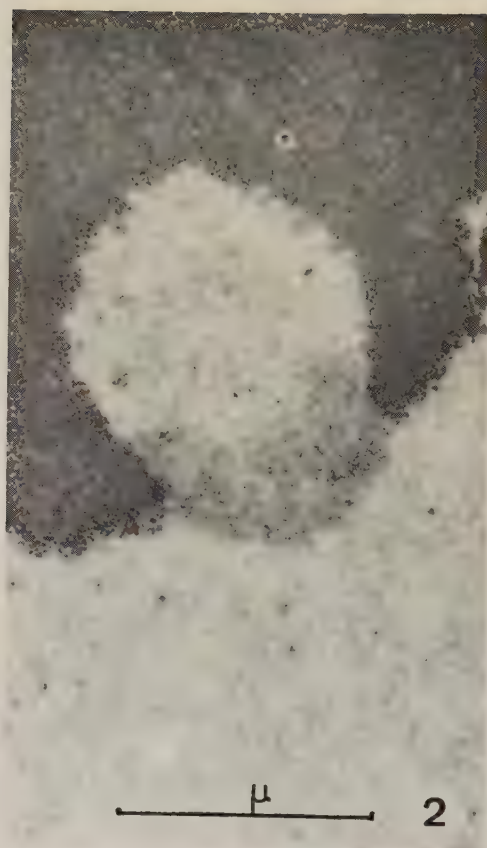
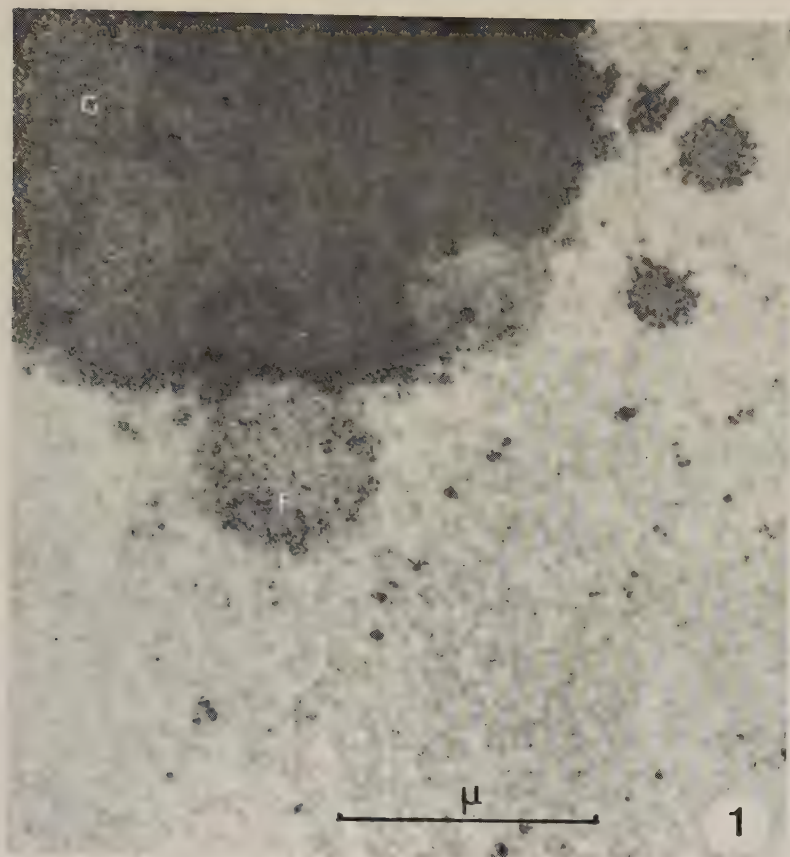


Fig. 1 : Nucléole très dégradé avec des zones granulaires distinctes et transformation de l'ensemble en matériel pycnotique (X 35 000).

Fig. 2 : Fort grossissement de l'image précédente montrant un amas granulaire séparé de l'ensemble du nucléole (X 80 000).

Fig. 3 : Fin d'évolution de ces nucléoles : zones fibrillaire, et granulaire juxtaposées, et amas pycnotiques (X 35 000).

Fig. 4 : Fort grossissement de l'image précédente montrant surtout la disposition des granules nucléolaires dans des logettes (X 80 000).

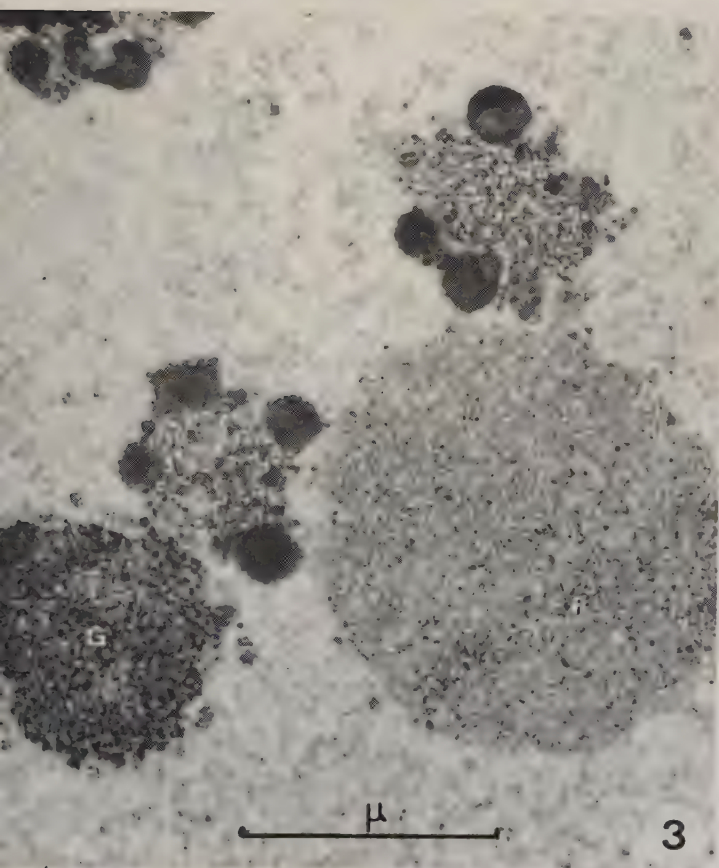
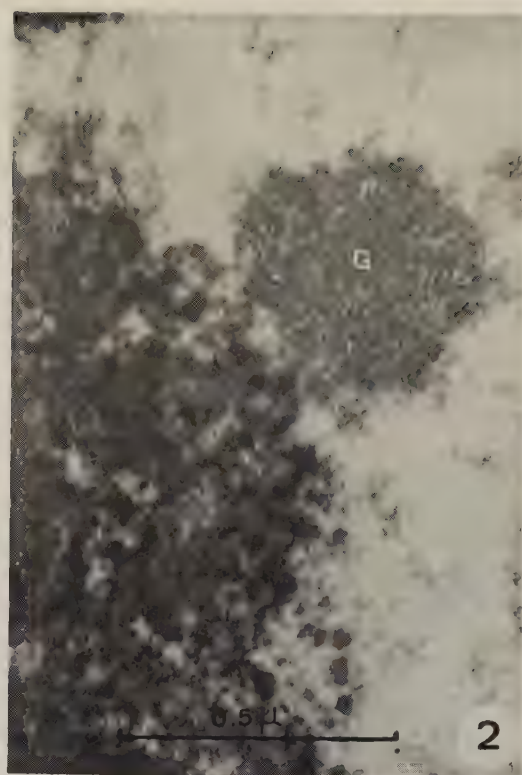
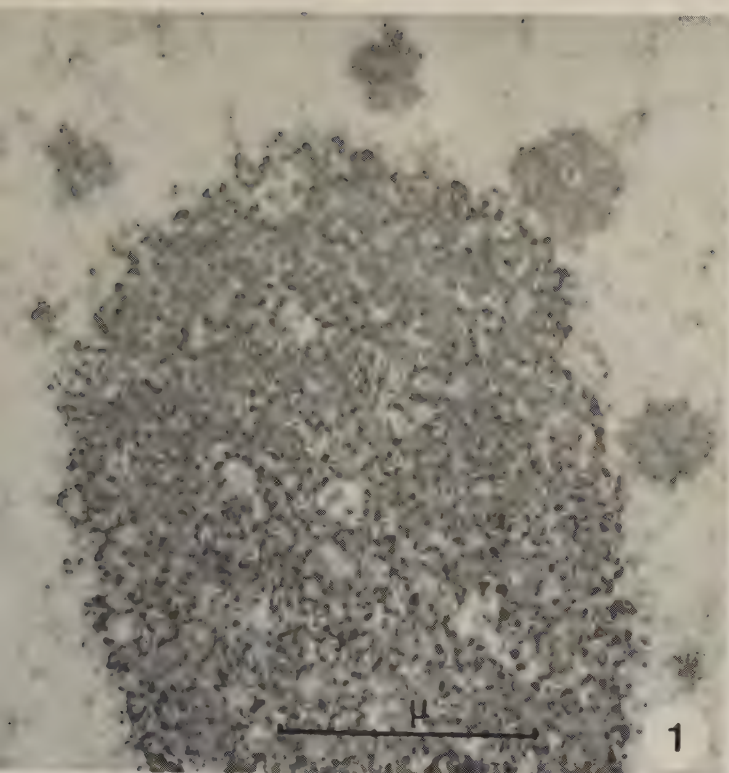


Fig. 1 : Micronucléole dont les éléments fibrillaire et granulaire se séparent, avec en plus apparition de gros grains denses (X 60 000).

Fig. 2 : Amas fibrillaire provenant de la ségrégation des constituants d'un micronucléole (X 60 000).

Fig. 3 : Micronucléole accolé à un gros nucléole et présentant les mêmes phénomènes de ségrégation (X 60 000).

Fig. 4 : Aspect des chromosomes dans les ovocytes atrétiques (X 60 000).

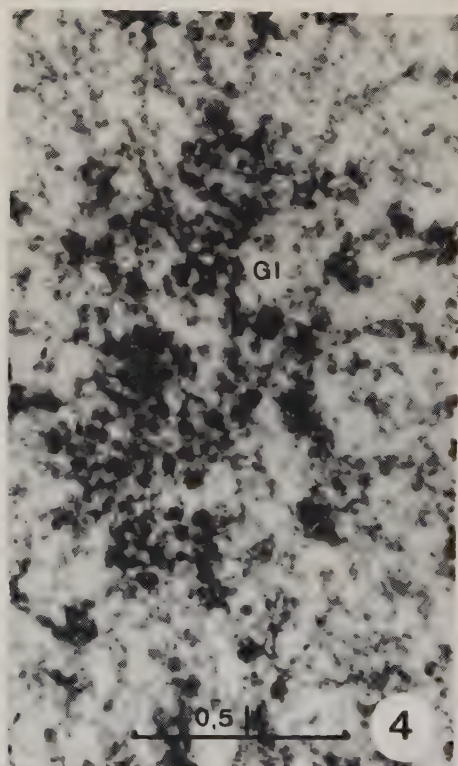
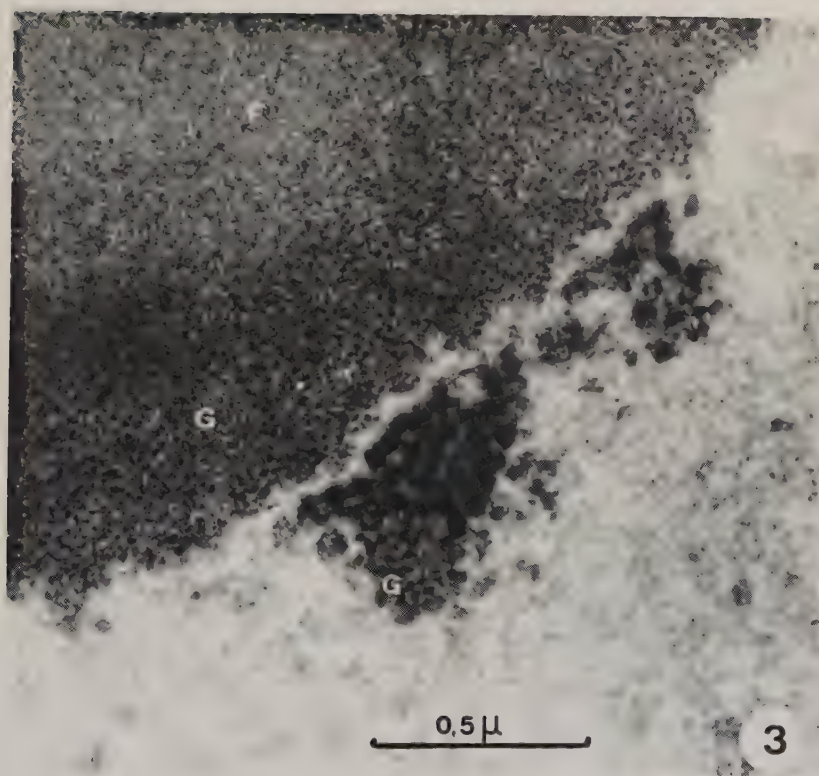
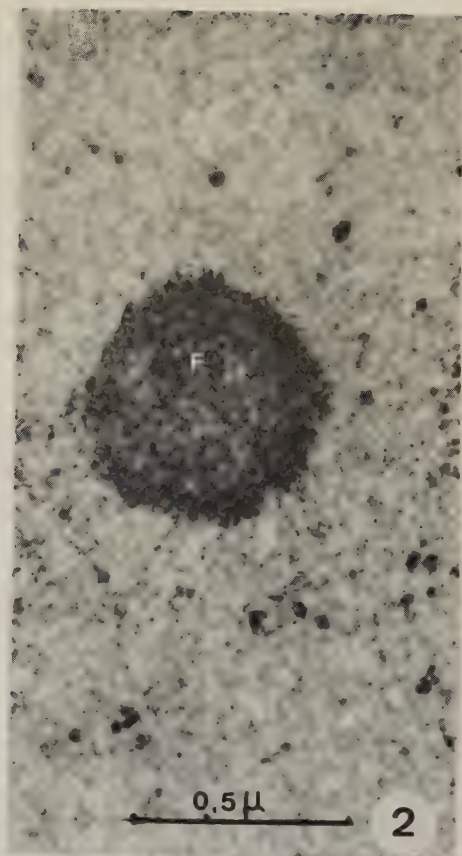
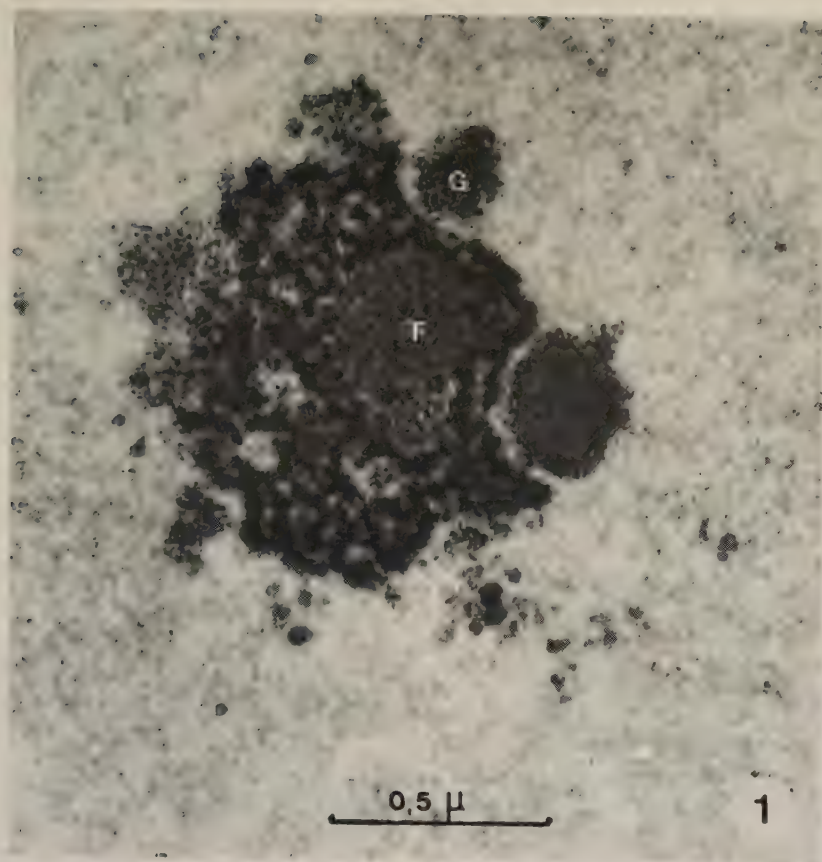


Fig. 1 : Nucléole d'un jeune ovocyte sans vitellus montrant une énorme vacuole (X 36 000).

Fig. 2 : Nucléole d'un ovocyte identique, constitué uniquement de fibrilles. Formations membraires au contact de ce nucléole (X 50 000).

Fig. 3 et 4 : Formations myéliniques dans le noyau près de nucléoles vacuolisés ou fragmentés (X 35 000 et 60 000).

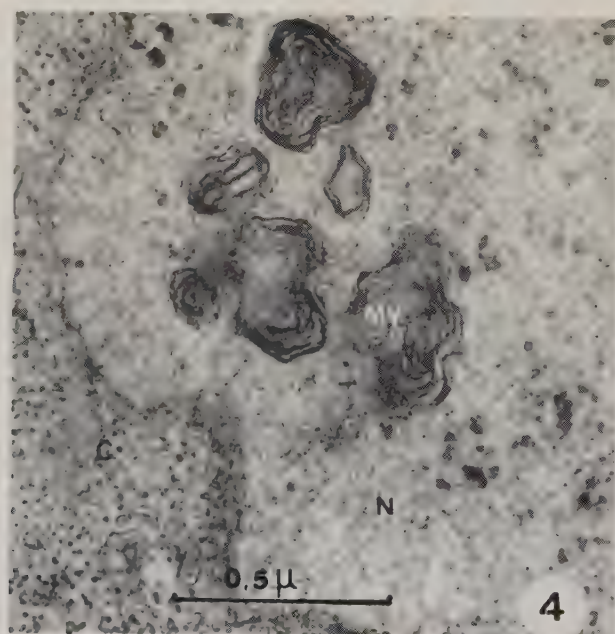
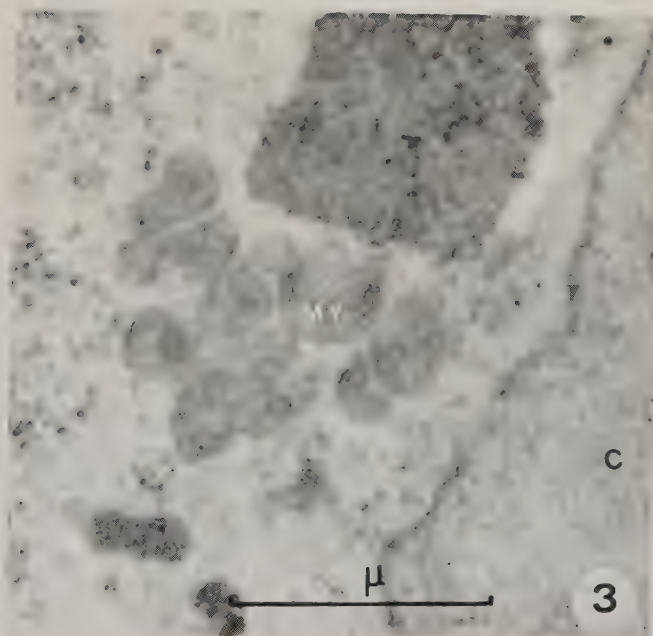


Fig. 1 : Formations myéliniques dans le cytoplasme en face d'un nucléole (X 50 000).

Fig. 2 : Formations myéliniques abondantes avec un nucléole très fragmenté (X 50 000).

Fig. 3 : Formations myéliniques au contact d'un nucléole (X 60 000).

Fig. 4 : Formations myéliniques au contact de la membrane nucléaire (X 80 000).

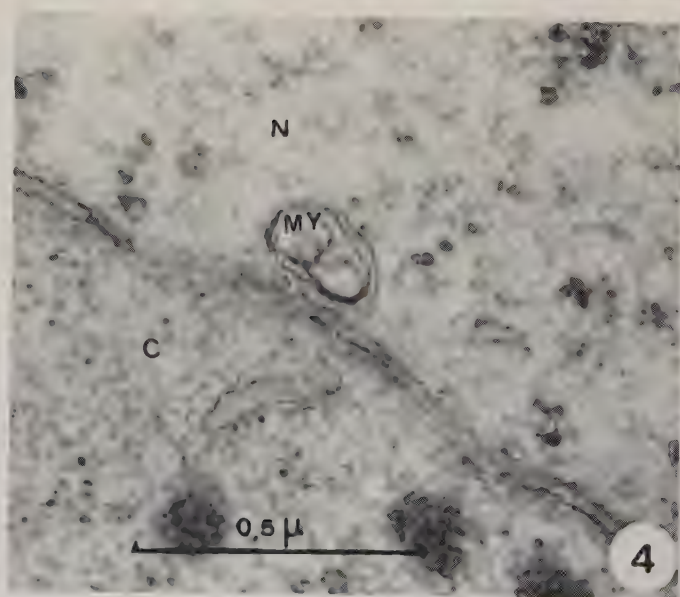
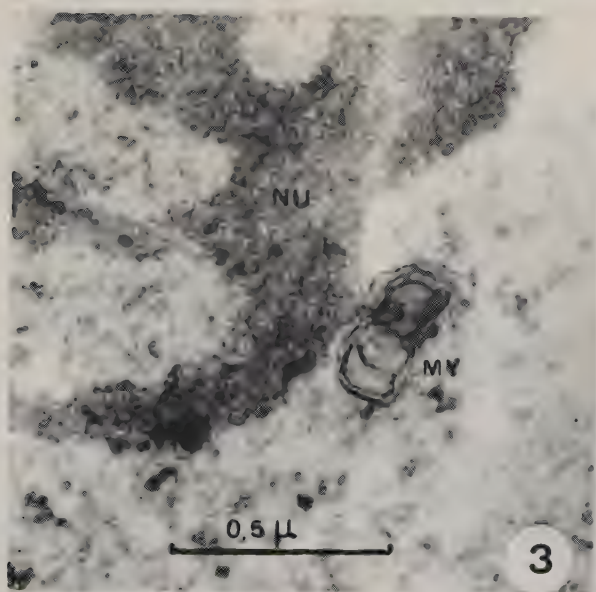
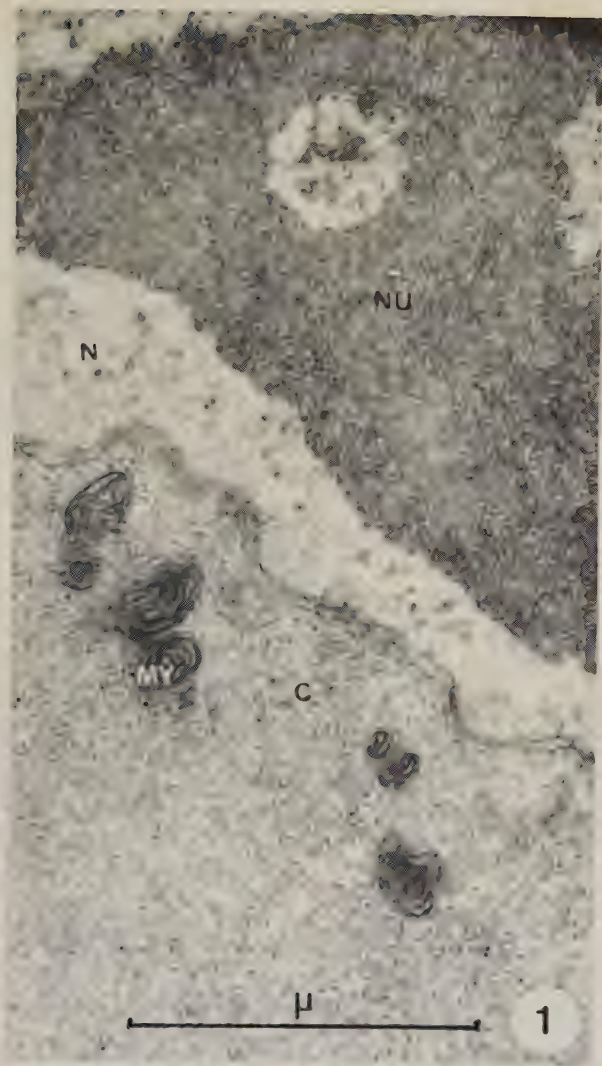


Fig. 1 : Présence de collagène entre les cellules du corps
atrétique (X 42 000).

Fig. 2 : Portion d'une cellule phagocytaire avec pseudopo-
des et pigment mélanique (X 35 000).

Fig. 3 : Portion d'une cellule phagocytaire : noyau et ly-
sosome (X 22 000).

Fig. 4 : Portion d'une enclave de cytolyse (phagosome) con-
tenant des ribosomes alignés plus ou moins réguli-
èrement (X 75 000).

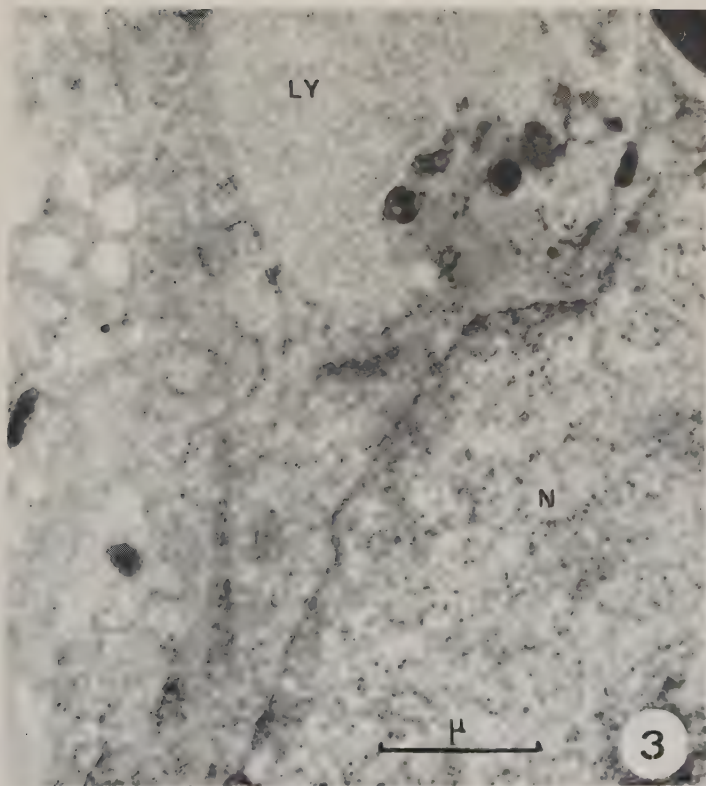
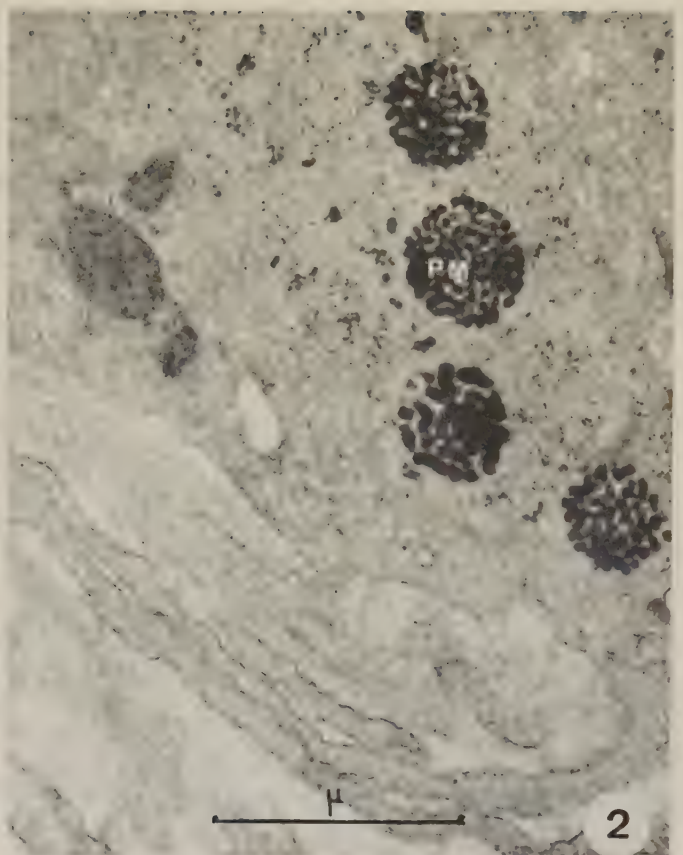


Fig. 1 : Plaquettes vitellines fragmentées dans les cellules phagocytaires (X 3 000).

Fig. 2 : Aspect vésiculaire de la dégradation des plaquettes vitellines (X 12 000).

Fig. 3 : Plaquette vitelline partiellement transformée en formations myéliniques (X 60 000).

Fig. 4 : Plaquette vitelline complètement transformée en lamelles myéliniques (X 20 000).

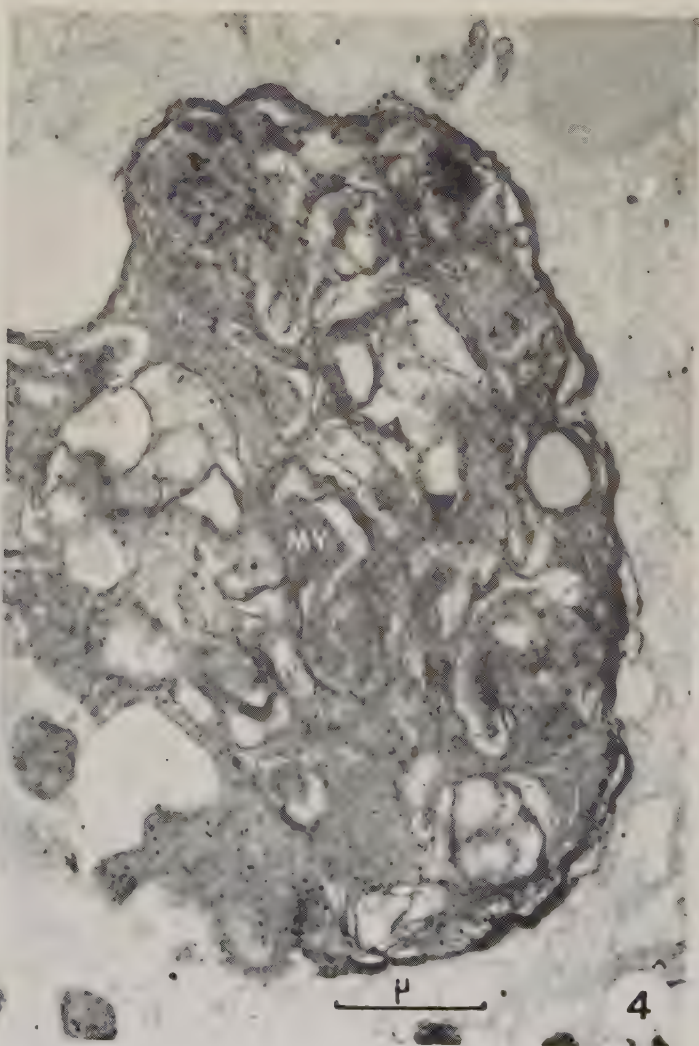
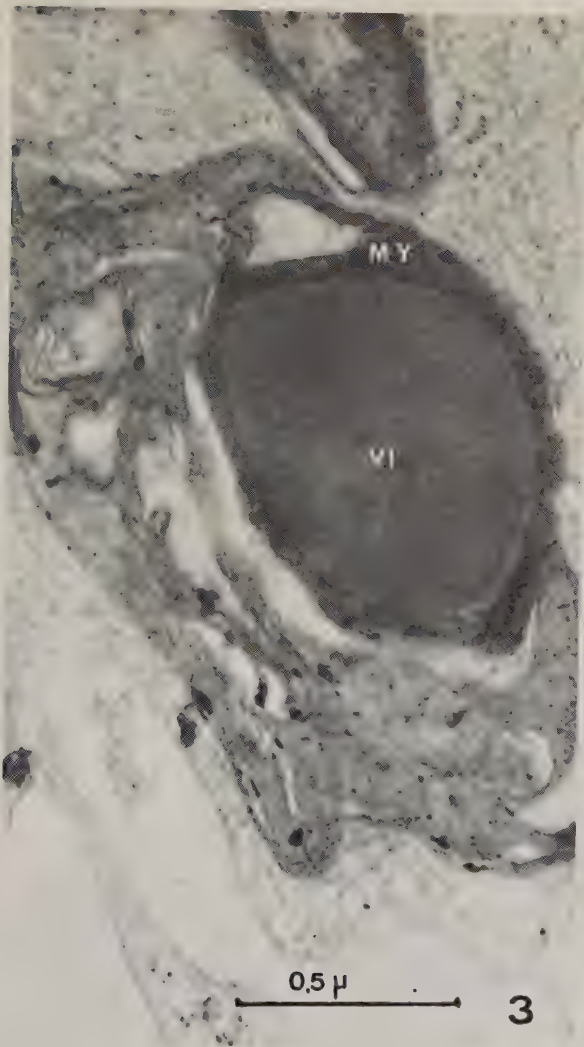
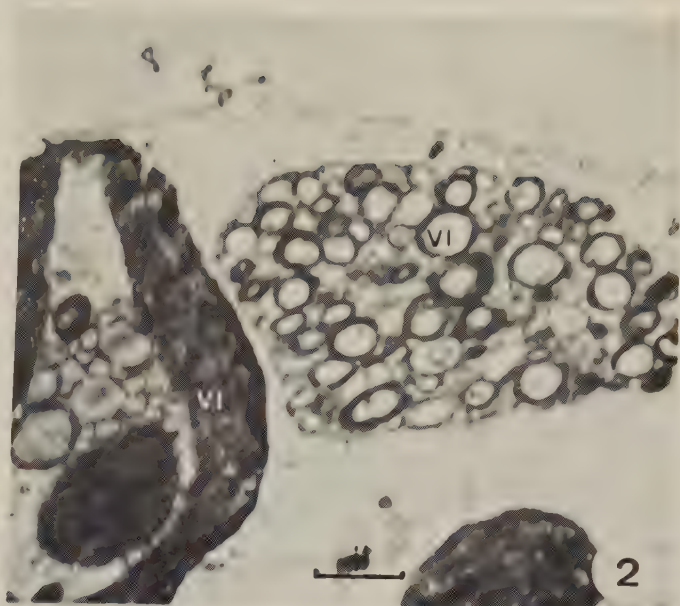
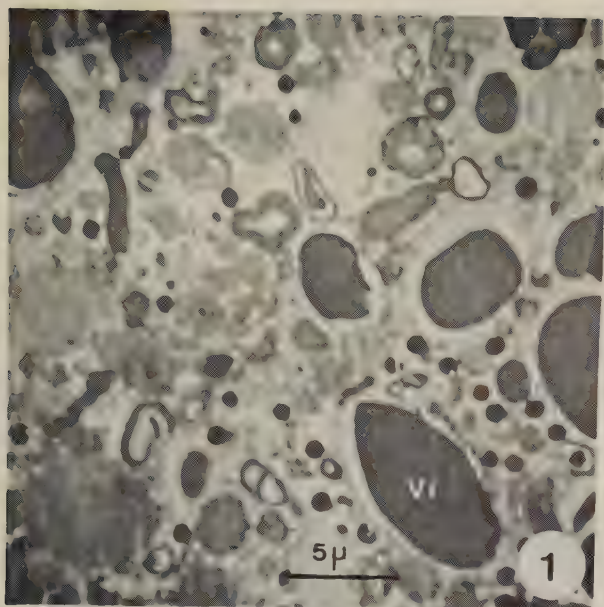
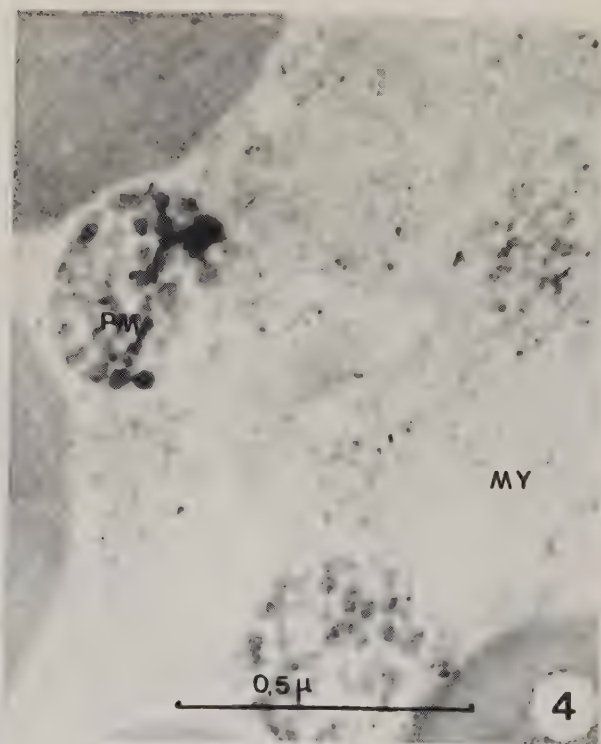
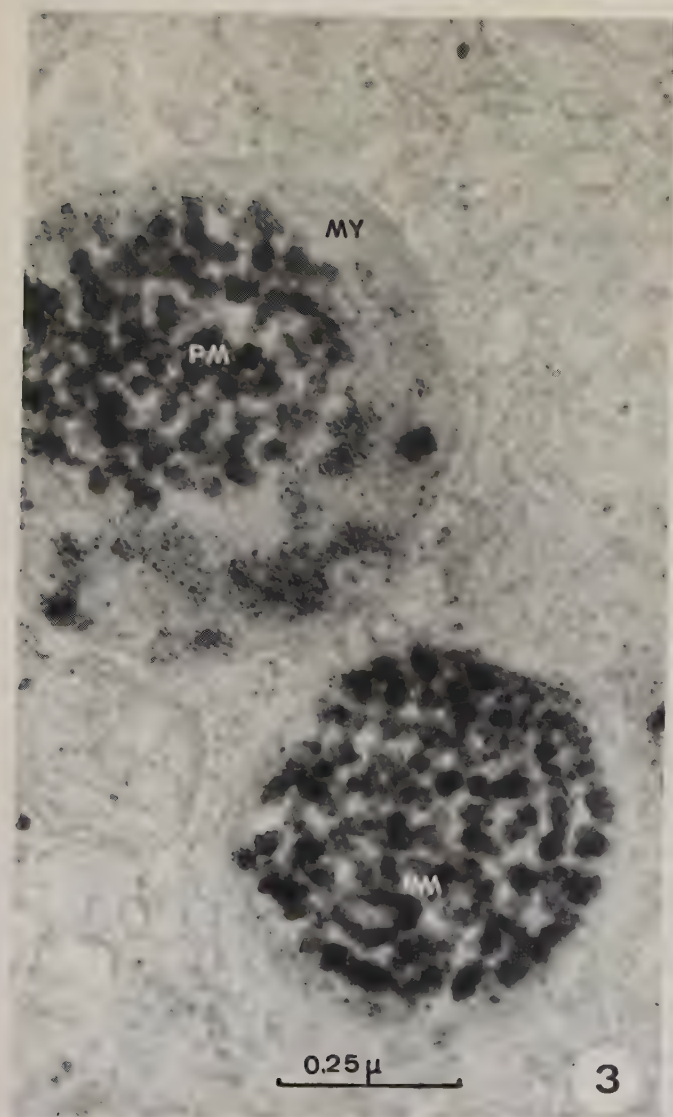
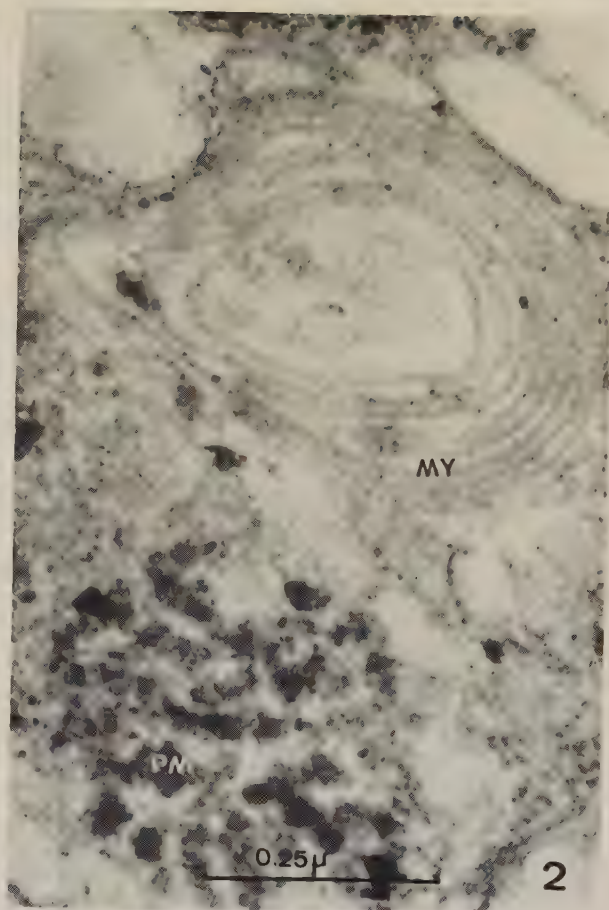
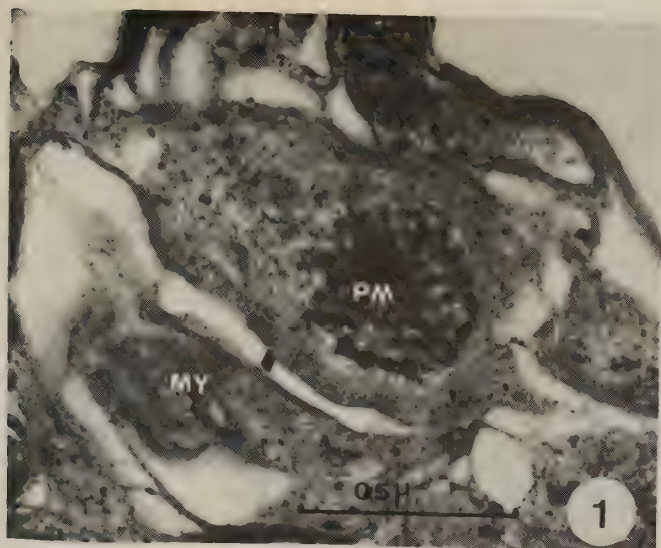


Fig. 1 : Apparition d'un mélanosome à l'intérieur d'une
plaquette vitelline en dégénérescence
(X 60 000).

Fig. 2. 3 et 4 : Grains de pigment mélanique plus ou
moins nettement constitués, au milieu de forma-
tions myéliniques provenant de la dégradation
de plaquettes vitellines (X 130 000, 100 000,
et 80 000).



Vu et permis d'imprimer

Montpellier, le

Le Doyen de la Faculté
des Sciences

